

Санкт-Петербургский Государственный университет

Биологический факультет

Кафедра зоологии беспозвоночных

Смирнов Петр Александрович

# Сравнительный анализ жизненных циклов различных представителей Heterophyata (Trematoda: Digenea)

Выпускная квалификационная работа бакалавра

Работа выполнена на Кафедре  
зоологии беспозвоночных СПбГУ

Научный руководитель: доцент,  
к. б. н. Добровольский Андрей  
Александрович

Санкт-Петербург

2016

## • ВВЕДЕНИЕ

Trematoda – группа паразитических плоских червей Neodermata. Характерной чертой представителей этой группы является гетерогония – чередование партеногенетического и гермафродитного поколения в ряду хозяев. Многими исследователями производились попытки сконструировать систему, отражающую филогению группы. Исторически сложилось, что большинство из предложенных систем зиждется либо на морфологических особенностях половозрелой особи – мариты, либо на особенностях церкарии – свободноживущей стадии. На сегодняшний день очевидно, что эволюция трематод шла не в пределах какой-либо фазы в отдельности, а затрагивала цикл целиком. В таком случае, помимо морфологических особенностей той или иной структуры, на передний план выходит явление гетерохронии, столь явно выраженное у трематод. У всяких представителей на любой стадии жизненного цикла те или иные структуры находятся на разных этапах развития.

Существует несколько взглядов на природу жизненного цикла трематод. В первую очередь разногласия возникают в трактовке способа размножения спороцист и редий. Среди некоторых зарубежных исследователей второй половины 19-го, начала 20-го века была распространена точка зрения, согласно которой поколение спороцист-редий возникает за счет особой формы почкования – бесполого размножения (Steenstrup, 1842). Сегодня такую точку зрения нельзя считать актуальной. Почкование всегда захватывает целый пласт клеток. В случае внутримоллюсковых стадий трематод речь идет о единичных клетках, из которых развиваются эмбрионы. Основные споры сосредоточены вокруг вопроса о природе этих клеток. Согласно одной точке зрения (Leukart, 1882; Faust, 1917), которая ближе и автору данной рукописи, это клетки половой линии. Другие авторы, хоть и называют способ размножения спороцист и редий партеногенезом, но расценивают генеративные клетки как элементы сомы (Whitfield, Evans, 1983). В последнем случае говорят опять-таки о бесполом размножении. Также существует взгляд, по которому весь цикл представляет собой растянутый онтогенез одного поколения (Brooks, 1930). Причем, в этом случае, спороцисты-редии возникают вследствие полиэмбрионии. Надо признать, что спор между исследователями, придерживающихся тех или иных взглядов по этому вопросу, несет отчасти семантический характер. Опустив подробности этого спора, можно утверждать, что разногласия в первую очередь говорят об отсутствии ясного понимания судьбы и самой природы структур, входящих в состав тела на той или иной стадии жизненного цикла. Возможно, во многом именно с этим непониманием и связано отсутствие не только самой системы, но и возможности ее создания. В огонь подливает масло то обстоятельство, что для многих групп трематод данные по некоторым стадиям жизненного цикла если и

имеются, то весьма фрагментарны. В первую очередь, речь идет о мирацидиях и поколении материнской спороцисты.

Долгое время до начала 20-го столетия никаких существенных попыток создания единой системы трематод не производилось. Различные роды сосальщиков к тому времени только начали объединять в семейства. Такие объединения строились по анатомическим характеристикам половозрелых форм. Первая система трематод, не основывающаяся на морфологии марит, была предложена Люэ (Lühe, 1909). В своей работе автор попытался выделить различные морфотипы церкарий. Забегая вперед, стоит отметить, что, во многом, разделение трематод на две системы (система церкарий и система марит) сохранилось по сию пору. Система Люэ была построена по чертам внешней морфологии церкарий: наличие брюшной присоски, наличие фурки, плавниковой складки, стилет и т. д. В дальнейшем, ряд авторов вводил корректировки и дополнения в систему Люэ (Lebour, 1911; Kobayashi, 1922; Sewell, 1922; Miller, 1926 и др.). В их работах были учтены новые признаки, и их системы включали большее число различных представителей трематод. Фаустом (Faust, 1924) была произведена попытка построить систему, опирающуюся на особенности распределения пламенных клеток в теле церкарии. Дюбуа (Dubois, 1929) были введены термины стеностомные и мезостомый типы церкарий – термины, отражающие характеристики собирательных каналов выделительной системы церкарий. Кульминацией построений систем трематод по морфологическим признакам церкарий, пожалуй, можно считать работу Ля Рю (La Rue, 1957). В этой системе, включающей большое число различных семейств, все трематоды разделяются на две группы: Epiteliocystidea и Anepiteliocystidea. Признак, заложенный в этих названиях – наличие эпителизированного мочевого пузырька. Более детальные разделения в этой системе согласованы с признаками, использованными в ранних построениях. Работа Ля Рю многократно подвергалась критике. В дальнейшем, на ряде представителей электронно-микроскопическими методами было показано, что стенки мочевых пузырьков, которые Ля Рю подозревал в эпителизованности, оказались синцитиальными конструкциями (Powell, 1972, 1973, 1975 и др.). В настоящий момент нет оснований сомневаться в синцитиальной природе стенок мочевых пузырьков у трематод. Так или иначе, система Ля Рю, пожалуй, самая крупная система, построенная по морфологии церкарий трематод (La Rue, 1957).

Во второй половине двадцатого века многие авторы стали задаваться вопросом о том, какая из стадий (церкария или марита) более пригодна для филогенетических построений. Одни утверждали, что для церкарии как для «личиночной» фазы степень гомоплазии должна быть меньше. Другие пытались опровергнуть аргументы первых. Кэйбл (Cable, 1974) представил филогению 56-ти семейств трематод в виде дендрограммы, построенной по множеству морфологических признаков. Эта дендрограмма опирается в большей степени

на морфологию церкарий. Некоторые авторы строили деревья, придавая большее значение типу дочерних партенит (Odening 1961). Своего рода разрешением этих споров можно считать попытки нескольких авторов построить комплексную систему, основывающуюся на морфологических характеристиках всех стадий жизненного цикла (Odening, 1974; Brooks et al., 1985). Однако стоит отметить, что в этих построениях по-прежнему большее внимание уделялось признакам церкарий и марит.

С развитием технологий секвенирования нуклеотидных последовательностей к началу 21-го века накопилось большое количество данных по различным группам трематод. Олсон с соавторами (Olson et al., 2003), свели последовательности генов малой и большой субъединиц рибосомы в единые матрицы и построили филодендрограмму, включающую 163 таксона.

Пожалуй, каждая упомянутая реконструкция филогении требует подробного описания и анализа с современной точки зрения. Однако это не входит в задачи данной работы, и, скорее всего, требует некоего сотрудничества между исследователями, специализирующимися на разных группах сосальщиков. Не стоит полагать, что дендрограммы, накопленные к сегодняшнему дню малоценны. Если попытаться проследить «эволюцию» реконструкций от системы Люэ до нынешних построений, можно с легкостью заметить, как семейства трематод кластеризуются в монофилетические группировки. Причем эти группировки от системы к системе приобретают большее разрешение (включают большее число семейств). Можно выделить как минимум пять крупных ветвей трематод. Возникают определенные трудности при попытке как-либо их обозначить. Разные авторы предлагают разные названия. Так или иначе, есть основания выделять следующие ветви: трематоды стригео-шистосомоидного ряда, хемиуридные трематоды, эхиностоматиды, плагиорхииды (sensu Odening, 1974) и описторхииды. Представители каждой ветви обладают рядом апоморфий, указывающих на монофилию этих групп. Основные трудности современной филогенетики трематод заключаются в отсутствии понимания того, как эти группировки сообщаются между собой. Иными словами, порядок ветвления на существующих дендрограммах оказывается самым разным. В данной работе сосредоточено внимание на трематодах группы Opisthorchiida (sensu Odening, 1974).

Описторхииды – обширная группа трематод, включающая не менее 130-ти родов. Большинство исследователей, занимавшихся этой группой, выделяло три семейства: Cryptogonimidae, Opisthorchiidae и Heterophyidae. Есть серьезные основания сомневаться в монофилии каждого из трех семейств. Поэтому автор данной рукописи остерегается использовать название Opisthorchiida. Вместо него в заглавии и в самом тексте употребляется во многом забытое для этой группы слово – Heterophyata.

Анализируя морфологию отдельных стадий жизненного цикла гетерофиат, можно прийти к выводу, что данная группа обладает множеством апоморфий, которые указывают на эволюционно сложившуюся специализацию этой группы. В то же время некоторые признаки сохраняются здесь в «архаичных» состояниях. В литературе, посвященной трематодам, часто встречается ситуация, при которой авторы ставят представителей гетерофиат в ряд с «примитивными» и в той же работе с «продвинутыми» семействами. Действительно, возникают серьезные трудности при попытке определить место этого таксона среди других ветвей трематод. Таким образом, можно говорить о, своего рода, «промежуточном» состоянии Heterophyata. Накопление новых сведений и попытки выявить базальные для данной группы признаки явились бы возможностью оценить положение гетерофиат в системе трематод. Данная работа является своего рода плацдармом для дальнейших исследований в этой области.

## • ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### Общая характеристика жизненного цикла.

Трематоды группы Heterophyata характеризуются треххозяиным жизненным циклом. Окончательными хозяевами служат птицы, млекопитающие, рептилии или рыбы. Первыми промежуточными хозяевами являются брюхоногие моллюски Caenogastropoda, заражение которых происходит за счет поглощения моллюском яйца со зрелым мирацидием. В первом промежуточном хозяине развиваются партеногенетические поколения трех типов: материнская спороциста, материнские и дочерние редии. Последние отрождают церкарий, которые, покинув моллюска, активно перемещаются к месту встречи со вторым промежуточным хозяином. Обычно это рыбы (реже амфибии). Проникнув в ткани второго промежуточного хозяина, церкарии инцистируются (метацеркарии). Окончательный хозяин заражается, съедая второго промежуточного хозяина, содержащего метацеркарии. В окончательном хозяине развивается марита, продуцирующая зрелые яйца во внешнюю среду (рис. 1).

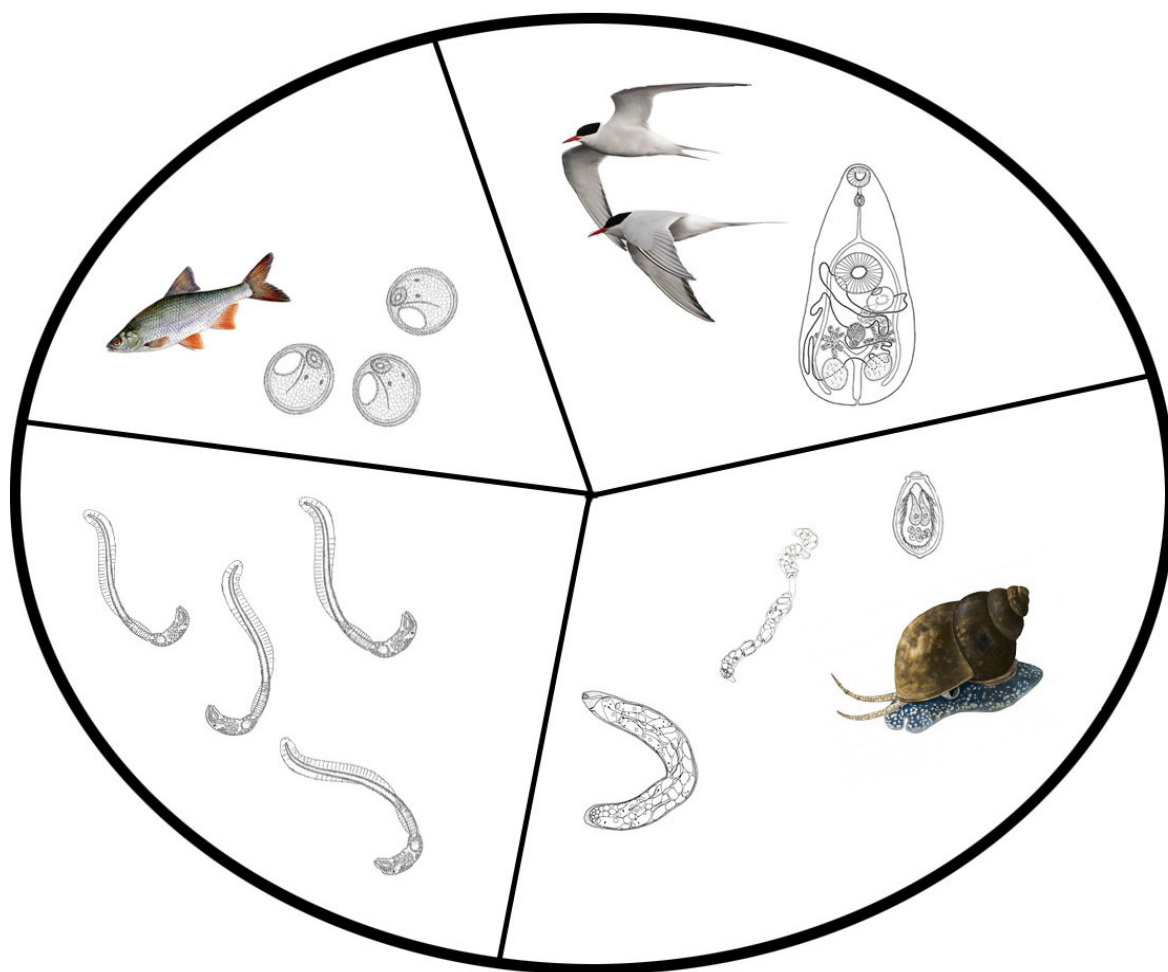


Рис. 1. Схема жизненного цикла Heterophyata.

### Мирацидий.

Все Heterophyata обладают мирацидиями, которые попадают в первого промежуточного хозяина – моллюска «Prosobranchia» (подкласс *Caenogastropoda*) – пассивно, при случайном поедании яиц, содержащих зрелых личинок. Обычно это представители групп *Littorinimorpha* или *Cerithioidea* (i.e. *Bithyniidae*, *Thiaridae*, *Littorinidae*, *Hydrobiidae*, *Amnicolidae*) (Bouchet, Rocroi, 2005) (табл. 1). Из личинки в моллюске развивается материнская спороциста – первая фаза партеногенетического поколения.

Полное созревание личинки завершается в концевых отделах матки мариты. Яйцо с созревшим мирацидием выводится во внешнюю среду, где и поглощается моллюском, в кишечнике которого происходит вылупление. С.М. Герман и С.А. Беэр (1986) отмечают, что успешный выход личинок *Opisthorchis felineus* из оболочек яйца возможен только при условии активации так называемой железы вылупления, которая занимает большую часть

тела мирацидия и содержит зернистый секрет. Механизм активации этой железы неизвестен. Этими же авторами (1991) с помощью сканирующего электронного микроскопа были исследованы процессы вылупления мирацидиев *Clonorchis sinensis* и *O. felineus in vitro*. Предположительно, выход личинки осуществляется под совместным действием механического (воздействие радулярного аппарата) и химического (пищеварительные ферменты, анаэробные условия) факторов.

Мирацидий представляет собой одну из самых малоизученных стадий жизненного цикла гетерофиат. Существует несколько работ, в которых более или менее подробно рассматривается морфология личинки (Faust, 1929; Vogel, 1934; Hsu, 1951; Perkins, 1956;

Вышкварцева, 1969; Посохов, 1972; Shameem and Madhavi, 1988). Однако схемы, представленные авторами, весьма

противоречивы, и единого мнения о строении мирацидия не существует. На ультраструктурном уровне мирацидий не был изучен вовсе (это же можно сказать про всех представителей Plagiorchiida (sensu Odening, 1974)).

Судя по данным Н.В. Вышкварцевой (1969), мирацидий *Metorchis intermedius* (см. рис.2, *Ia-b*), находящийся под яйцевыми оболочками, очень небольшой (0.280x0.117мм – у автора) с эпителиальной формулой 3:3 (два поперечных ряда по три ресничных пластинки). Цилии вылупившегося мирацидия весьма длинны и способствуют успешной локомоции в слизистом содержимом кишечника моллюска. Железистый аппарат мирацидия представлен тремя железами: две двудерные железы проникновения, расположенные одна за другой, и вышеупомянутая железа вылупления, расположенная сбоку от первых. Железа вылупления «трубковидной» формы, ее проток дугообразно изогнут в передней части тела. По наблюдениям автора, секрет этой железы расходуется во время выхода мирацидия из яйца. Вылупившийся мирацидий обладает либо сильно уменьшенной железой, либо она отсутствует вовсе. В задней части личинки расположены две герминальные клетки. Сомы мирацидия представлена шестью-семью клетками с крупными ядрами. Выделительная система характеризуется двумя протонефридиями, представленными одной мерцательной клеткой каждый.

Вид Heterophyata	Первый промежуточный хозяин
<i>Centrocestus armatus</i>	<i>Semisulcospira libertina</i>
<i>Heron Island zygo cercaria</i>	<i>Clypeomorus batillariaeformis</i>
<i>Galactosomum ussuriense</i>	<i>Cerithium coralium</i>
<i>Galactosomum bearupi</i>	<i>Clypeomorus batillariaeformis</i>
<i>Procerovum varium</i>	<i>Thiara tuberculata</i>
<i>Haplorchis pumilio</i>	<i>Thiara tuberculata</i>
<i>Monorchotrerna taihokui</i>	<i>Melania reiniana</i>
<i>Monorchotrerna taichui</i>	<i>Melania obliquegranosa</i>
<i>Haplorchoides mehrai</i>	<i>Melanoides tuberculatus</i>
<i>Clonorchis sinensis</i>	<i>Melania libertina</i>
<i>Metagonimus yokogawai</i>	<i>Melania libertina</i>
<i>Pseudosellacotyla lutzi</i>	<i>Aylacostoma chloroticum</i>
<i>Ascocotyle mcintoshii</i>	<i>Littoridinops monroensis</i>
<i>Apophallus brevis</i>	<i>Amnicola limosa</i>
<i>Metorchis sp.</i>	<i>Bithynia tentaculata</i>
<i>Opisthorchis viverrini</i>	<i>Bithynia goniomphalos</i>
<i>Euryhelms monorchis</i>	<i>Pomatiopsis lapidaria</i>
<i>Acanthocollaritrema</i>	<i>Heleobia australis</i>
<i>Caecicola latostoma</i>	<i>Amnicola peracitita</i>
<i>Oligogonotylus manteri</i>	<i>Benthonella gaza</i>
<i>Cryptocotyle lingua</i>	<i>Littorina littorea</i>

**Таблица 1. Виды гетерофиат и их первый промежуточный хозяин. Цветом обозначены надсемейства моллюсков: бирюзовый - Cerithioidea; желтый – Truncatelloidea; розовый – Risssooidea; зеленый – Littorinoidea.**

П.С. Посохов (1972), исследовавший морфологические особенности фаз жизненного цикла *Clonorchis sinensis* (рис.2, 2), также отмечает наличие пары двуядерных желез в передней части тела мирацидия. Автор предполагает, что эти структуры выполняют функцию желез проникновения. На его схеме также отмечены железа вылупления, две крупные генеративные клетки в задней части тела и пристеночно расположенные соматические клетки.

Схемы Фауста (Faust et al., 1929) и Фогеля (Vogel, 1934) (рис.2, 4a-b) по мирацидиям *C. sinensis* и *Opisthorchis felineus* частично противоречат и данным Вышкварцевой, и данным Посохова. Основное отличие заключается в полном сохранении железы вылупления (langgestreckte Drüsenzelle) у вылупившегося мирацидия на схемах обоих авторов. Железы проникновения на схемах представлены либо двумя одноядерными структурами (*O. felineus*), либо одной одноядерной (*C. sinensis*). Также на схемах показано большее число ядер в задней части тела мирацидия.

Стоит обратить особое внимание на работу Фогеля (Vogel, 1934) по *O. felineus*, где мирацидий описан с поразительной для того времени подробностью. Помимо того, о чем было сказано выше (сохранение железы вылупления, число ядер), важно отметить, что железа вылупления, по наблюдениям Х. Фогеля, содержит ядро. Секрет этой железы, представленный гомогенным веществом, у мирацидия, находящегося под яйцевыми оболочками, приобретает зернистый характер после вылупления. Автор полагает, что эта железа наряду с апикально расположенной клеткой выполняет пенетрационную функцию. Также Х. Фогель сомневается в железистой природе клетки, расположенной по центру. Эти сомнения связаны с тем, что автору не удалось обнаружить какого-либо протока. В работе отмечено, что эта клетка может являться генеративной. Всего на окрашенных препаратах Фогелю удалось обнаружить 10-12 ядер, преимущественно располагающихся в задней части тела. Однозначного вывода о природе клеток, содержащих «задние» ядра не делается, но, по мнению автора, причин выделять среди них генеративные нет. Предположительно, это соматические клетки, образующие паренхиму, мышечный и нервный элемент мирацидия.



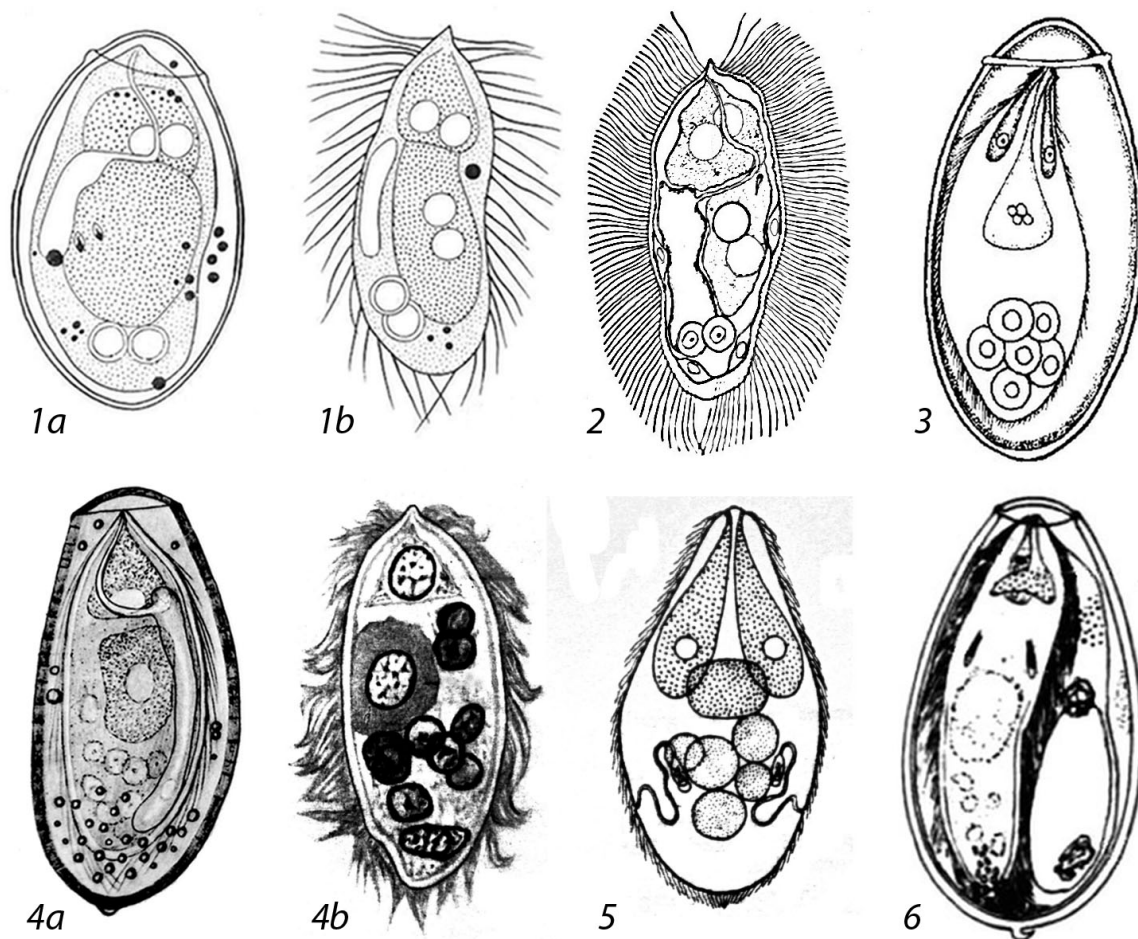


Рис. 2. Схемы мирацидиев различных представителей Heterophyata. 1a, 1b - мирацидий *Metorchis intermedius* (по: Вышкварцева, 1969), 2 - мирацидий *Clonorchis sinensis* (по: Посохов, 1972), 3 – мирацидий *Haplorchoides mehrai* (по: Shameem and Madhavi, 1988), 4a, 4b – мирацидий *Opisthorchis felineus* (по: Vogel, 1934), 5 – мирацидий *Haplorchis pumilo* (по: Hsu, 1951), 6 – мирацидий *Acetodextra amiuri* (по: Perkins, 1956).

Мирацидий *Acetodextra amiuri* (рис.2, 6), описанный Перкинсом (Perkins, 1956), в общем, схож с мирацидиями, описанными Фаустом и Фогелем. Также отмечены пара циртоцитов, железа проникновения и железа вылупления (cephalic gland). Последняя отличается от таковой у других описанных личинок треугольной формой и меньшими размерами. Наблюдения Перкинса производились на невылупившемся мирацидии.

Хсю (Hsu, 1951), рассматривая морфологию мирацидия *Haplorchis pumilo* (рис.2, 5), указывает на наличие двух одноядерных желез в передней части тела личинки. Также Хсю отмечает ганглий, располагающийся в середине тела мирацидия. Четыре-пять клеток в задней части тела личинки расцениваются автором как генеративные.

Схема строения мирацидия *Haplorchoides mehrai* (Shameem and Madhavi, 1988) значительно отличается от вышеупомянутых описаний (рис.2, 3). Авторы указывают на наличие четырех ядер в железе вылупления (apical gland). Железа вылупления бутылковидной формы. По бокам от нее лежит пара одноядерных желез проникновения.

Таким образом, можно сказать, что данные по морфологии мирацидиев Heterophyata весьма противоречивы. Согласия между авторами нет в первую очередь относительно железистого аппарата личинки.

С.М. Германом и С.А. Беэром (1991), помимо особенностей вылупления мирацидия, был описан процесс освобождения личинки *C. sinensis* от ресничных пластинок. По их данным, мирацидий, вышедший из яйцевых оболочек, использует весь ресничный аппарат (оба ряда ресничных пластин) для перемещения в слизистом содержимом кишечника. Спустя некоторое время мирацидий сбрасывает задние ресничные пластинки, в то время как передние остаются. Авторы предполагают, что мирацидий использует передние цилии для проникновения в стенку кишечника моллюска.

Так или иначе, механизм пассивного заражения первого промежуточного хозяина, влекущий за собой сильное упрощение строения мирацидия, бесспорно является чертой специализации группы. Переход к такому механизму наблюдается сразу у нескольких филогенетически отдаленных групп.

### **Материнская спороциста.**

Спустя некоторое время после вылупления, мирацидий начинает внедряться в кишечный эпителий моллюска. В процессе проникновения личинка сбрасывает ресничные пластинки. Это знаменует переход к первой фазе партеногенетического поколения внутри моллюска. Хсю (Hsu, 1951) отмечает наличие овальных масс различных размеров в пищеварительной железе моллюска *Melania* на 14-16 день после заражения яйцами *H. pumilo* – это материнские спороцисты.

Материнская спороциста, безусловно, является самой малоисследованной стадией жизненного цикла Heterophyata (это же справедливо для всех Trematoda). Несмотря на наличие лишь небольшого количества данных по морфологии материнской спороцисты гетерофиат, некоторые авторы с определенной долей уверенности полагают, что генеративный потенциал партениты невелик. Судя по их работам, в гораздо большей степени функцию умножения генераций гетерофиат в первом промежуточном хозяине берут на себя следующие стадии партеногенетического поколения. Это достигается за счет того, что инфрапопуляция партенит гетерофиат в моллюске являет собой самовоспроизводящуюся систему – микрогемипопуляцию (Галактионов и др., 2014).

Начинает свое развитие материнская спороциста в стенке кишки моллюска. Спустя 2-3 дня ее размеры мало отличаются от размеров мирацидия. Посохов (1972) отмечает увеличение размеров генеративных клеток на этой стадии. Постепенно материнская спороциста вытягивается в длину, приобретая вид бесформенного мешка. Дальнейшая

судьба партениты предполагает активную миграцию в гемоцель моллюска, где в зародышевой полости материнской спороцисты происходит созревание поколения материнских редий. Последние покидают спороцисту, разрывая ее стенки.

Материнская спороциста *H. mehrai* на десятый день заражения моллюска *Melanoides tuberculatus* представлена шаровидным образованием, прикрепленным к стенке кишки (Shameem and Madhavi, 1988). К двадцатому дню партенита, содержащая множество зародышевых шаров и молодых материнских редий, мигрирует и приобретает бесформенный вид.

Весьма детально развитие партеногенетических поколений гетерофиат было изучено на примере представителя вида *Stellantchasmus falcatus* (Kaoru Noda, 1959). Важно отметить, что Нода предлагает совершенно отличающийся от описанного выше механизм развития партеногенетических поколений. Более того, этот механизм, как отмечает сам автор, уникален в пределах всех Trematoda. По наблюдениям автора, на 14-й день заражения моллюска *Melania muiensis*, в стенке кишки можно обнаружить овальной формы материнские спороцисты. Тело таких спороцист поделено на несколько компартментов, каждый из которых содержит единственную генеративную клетку. Нода отмечает, что на 39-й день в пределах каждого такого компартмента обнаруживается развивающийся эмбрион, окруженный тонкой мембраной. Автор трактует эти эмбрионы как развивающиеся дочерние спороцисты, предполагая что тонкая мембрана в дальнейшем станет «внутренней стенкой» дочерней партениты, а стенка самого компартмента – внешней. «Дочерние» спороцисты не вполне ясным образом отделяются от материнской спороцисты и начинают расти, в дальнейшем приобретая нитевидную форму. Судя по описанию, партениты на этом этапе по прежнему остаются в стенке кишки моллюска. Внутренняя структура «дочерней» спороцисты представляет собой некое нитевидное образование, где автор выделяет зародышевые шары. Спустя некоторое время «дочерняя» спороциста представляет собой «цепочку» длиной до 12-ти миллиметров. Из зародышевых шаров развиваются материнские редии, которые покидают спороцисту и оказываются в гемолимфе, омывающей кишку. В дальнейшем такие материнские редии, по наблюдениям автора, мигрируют в пищеварительную железу, где отрождают следующее поколение – поколение дочерних редий.

Схемы фрагмента «дочерней» спороцисты, представленные Нода, в определенной степени схожи с таковыми по спороцистам *Centrocestus formosanus* (Martin, 1958). Мартин в своей работе утверждает, что ему удалось обнаружить в тканях моллюска *Stenomelania newcombi* длинные (до 1 см.) нитевидные спороцисты. В таких спороцистах он выделяет «сердцевину» из клеток, которые в той или иной степени отделены от стенок спороцисты.

Автор предполагает, что из этих скоплений развиваются редии, которые, покинув тело спороцисты, мигрируют в пищеварительную железу моллюска.

Пожалуй, наиболее подробно ранние этапы развития партеногенетического поколения были описаны Криббом (Cribb, 1986). Ранняя материнская спороциста *Stemmatostoma pearsoni* (рис.3) очень небольшая ( $13\mu\text{m} \times 8\mu\text{m}$ ), локализована под эпителиальными клетками кишки в соединительно-тканной капсуле. В середине овальной спороцисты залегают клетки с крупными ядрами. Автор расценивает их как генеративные. В стенке тела отмечены более мелкие ядра. Спустя некоторое время вокруг генеративных клеток появляется просвет. Такая спороциста начинает расти в сторону от стенки кишки моллюска, по-прежнему оставаясь связанной с ней «мантией» - соединительно-тканной оболочкой. В просвете со временем начинают формироваться зародышевые шары, из которых развиваются материнские редии. Крибб отмечает, что редии развиваются асинхронно. Более того, автор утверждает, что зародышевые шары расположены в полости материнской спороцисты по градиенту зрелости. Из этого делается вывод о вероятном наличии родильной поры на одном из концов вытянутой на этом этапе партеницы.

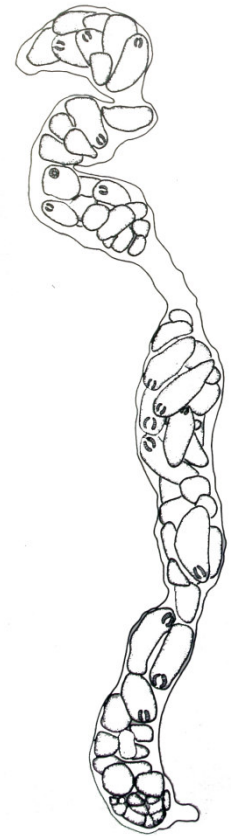


Рис. 3. Схема материнской спороцисты *Stemmatostoma pearsoni* (по: Cribb, 1986).

### Редия.

Дочернее партеногенетическое поколение Heterophyata представлено редиями, заполняющими значительную часть пространства внутренностного мешка моллюска. Пораженными оказываются пищеварительная железа и гонады. Часто редии обнаруживаются и в гемоцеле моллюска.

Как было отмечено выше, редии гетерофиат способны к самовоспроизведению. Из герминальных масс покинувших материнскую спороцисту редий (материнских) развиваются дочерние редии. Дочерние редии продуцируют личинки гермафродитного поколения – церкарии. Репродукция дочерних редий ограничена в силу истощаемости генеративного потенциала единственной герминальной массы отдельно взятой редии. Численность инфрапопуляции поддерживается на относительно постоянном уровне за счет способности редий воспроизводить себе подобных. Так, среди редий моллюска, продуцирующего

церкарий, можно найти «материнских» редий, из зародышевых шаров которых разовьется «следующее» поколение дочерних редий (Ameel et al., 1938).

Судя по имеющимся в литературе данным, редии гетерофиат отвечают единому плану строения. Однако размеры и форма редий могут в какой-то степени варьировать у разных представителей группы. При описании редий авторы обычно обращают внимание на морфологические особенности пищеварительной системы, экскреторную формулу и положение родильной поры.

Редия гетерофиат являет собой по сути переходную форму между редией с развитой кишкой и бескишечной дочерней спороцистой. Кишка у таких редий представлена небольшим пузырьком. В таком пузырьке обычно все же можно выделить пищевод, в который ведет глотка, и сильно редуцированную среднюю кишку. На редиях *Metagonimus yokogawai* показано (Добровольский и др., 1983), что такая пищеварительная система снабжена железистым аппаратом, представленным четырьмя типами клеток. Секрет этих клеток поступает в пластинку тегумента, выстилающую глотку и пищевод. Также у *M. yokogawai* имеется группа пищеварительных желез, протоки которых открываются на границе пищевода и средней кишки. Описание железистого аппарата редии *C. sinensis* (Посохов, 1972) в целом схоже с таковым по *Metagonimus*. Посохов, помимо «кишечного комплекса желез», отмечает наличие двух пар желез, открывающихся в передних отделах глотки редии. Так или иначе, большую роль в процессах адсорбции питательных веществ играет тегумент, наружная поверхность которого сильно складчата. Такой тегумент по сути являет собой щеточную кайму. Схожая картина характерна для спороцист трематод. На поверхности тегумента редий также открываются протоки желез.

Редии гетерофиат весьма малоподвижны. Они лишены локомоторных выростов. Мышечная система редии *Cryptocotyle lingua* была рассмотрена Д.Ю. Крупенко (личное сообщение). На снимках с конфокального микроскопа отчетливо видно, что мускулатура кожно-мышечного мешка редии *C. lingua*, как и у других исследованных партенит представлена внешним слоем кольцевых мышц и внутренним слоем продольных. Д.Ю. Крупенко, сравнивая степень развитости мускулатуры стенки тела с таковой у *Himasthla elongata* (Echinostomatidae), отмечает большую разреженность мускулатуры обоих слоев. Также оба слоя у *C. lingua* тоньше, и в целом можно считать, что мускулатура стенки тела менее развита, чем у *Himasthla*, хоть план строения и идентичен у обоих представителей. Кроме того, Д. Ю. Крупенко показала, что кроме мышечных элементов кожно-мышечного мешка, редии *C. lingua* обладают еще мышечными волокнами, пронизывающими толщу стенки тела («паренхиму») и выстилающими внутреннюю поверхность зародышевой полости.

Герминальная масса редий гетерофиат погружена в «паренхиму» заднего конца тела. Выводковая камера заполнена зародышевыми шарами разной степени зрелости. Зародышевые шары располагаются в шизоцеле по градиенту зрелости. Более зрелые эмбрионы локализуются ближе к переднему концу партениты. В дистальном отделе выводковой камеры расположены готовые к выходу из редии церкарии (или дочерние редии). Выход церкарий осуществляется через родильную пору, которая обычно располагается на уровне глотки. Стенка выводковой камеры снабжена мускулатурой, для которой отмечено перобладание кольцевых элементов. Концентрируясь на переднем конце, мышцы продолжаются в канал родильной поры, где они представлены плотным сплетением (личное сообщение Крупенко).

Выделительная система редий представлена двумя продольными собирательными каналами. Ультрафильтрация осуществляется передней и задней группами циртоцитов, приуроченных к собирательным каналам. Количество циртоцитов сильно варьирует, как между представителями разных групп гетерофиат, так и в пределах одного вида, чьи редии различаются по степени зрелости. Вышкварцевой (Вышкварцева, 1969) отмечено наличие в паренхиме *M. intermedius* до шестидесяти пламенных клеток. Собирательные каналы открываются на поверхности тегумента. Обычно говорят о срединном положении экскреторной поры редий гетерофиат.

Нервная система и сенсорный аппарат редий фактически не описаны.

### **Церкария.**

Церкария – свободноживущая стадия жизненного цикла трематод. Основной функцией этой фазы у многих сосальщиков является дисперсия паразита в пространстве. Это в определенной степени справедливо и для гетерофиат. В туловище сформированной личинки выделяют два отдела: передний отдел, или тело, и хвост. Функциональная нагрузка на эти отделы различна. Хвост в большинстве случаев выполняет локомоторную функцию. Тело же несет рецепторные структуры, ответственные за поиск второго промежуточного хозяина; железистый аппарат, обеспечивающий проникновение в него. Также, наряду с провизорными органами, в теле присутствуют зачатки органов половозрелой стадии – мариты. Последние в различных группах трематод могут быть выражены в разной степени, что является примером гетерохронии.

Церкарии Heterophyata характеризуются относительно небольшими размерами тела и весьма развитым хвостом, снабженным плавниковой складкой (табл. 2). По этому признаку, гетерофиатные личинки относятся к типу *Pleurolophocerca* (Sewell, 1922). Также относительно церкарий Heterophyata иногда используется термин *Parapleurolophocerca* (i.e.

*Haplorchis pumilo*). Основное различие заключается в разной ориентации плавниковой складки (Pleugo-/дорсо-вентральная; Parapleugo-/латеральная). Однако некоторые авторы (Hsu, 1951) полагают, что латеральная ориентация может быть следствием «скручивания» хвоста на 90° под покровным стеклом. Помимо характеристик плавниковой мембраны Сьюэлл вкладывал в предложенные им термины такой признак, как наличие брюшной присоски. По этому признаку *Pleurolophocerca* были отнесены к группе *Monostome cercariae*, а *Parapleurolophocerca* – к *Distome cercariae* (Lühe, 1909).

Так или иначе, церкарии *Heterophyata* являются хорошими пловцами, реализующими сложную траекторию движения. Их хвост совершает движения в трех плоскостях, формируя петли, идущие от основания к концу по или против часовой стрелки (Chapman & Wilson, 1973).

Хвост обладает определенной автоматией: часто наблюдается ситуация, при которой отделившийся хвост продолжает движение. Это объясняется наличием внутри него развитого нервно-мышечного элемента. Организация мускулатуры хвоста рассмотрена в нескольких работах на примере *C. lingua* (Chapman, 1972;

Rees, 1975, Tolstenkov et al., 2011 и др.). Продольная мускулатура хвоста представлена четырьмя лентами (две латеродорсальные, две латероventральные), выраженными на всей длине хвоста. Ядра мышечных клеток собраны в группы в передней и задней частях. У церкарии *C. lingua* их 32, что соответствует числу клеток продольной мускулатуры. Непосредственно под базальной мембраной тегумента расположен тонкий слой кольцевых волокон. Толстенков и др. (Tolstenkov et al., 2011) отмечает наличие поперечных мышц, соединяющих продольные ленты в центральной части хвоста. Элементы нервной системы, расположенные в хвосте были рассмотрены в нескольких работах (Pan et al., 1994; Tolstenkov et al., 2011). С использованием техники конфокальной микроскопии авторами было показано наличие двух 5-HT-IR-нейронов в хвосте. Также на снимках видно множество чувствительных нейронов, из которых 3 пары значительно крупнее остальных.

Виды <i>Heterophyata</i>	длина, $\mu\text{m}$	
	тело	хвост
<i>Heron Island zygoecercaria</i>	71	620 (zyg.)
<i>Procerovum sisoni</i>	99	257
<i>Caecicola latostoma</i>	128	339
<i>Monorchotrema taihokui</i>	129	440
<i>Clonorchis sinensis</i>	150	330
<i>Opisthorchis viverrini</i>	154	392
<i>Haplorchis pumilo</i>	158	399
<i>Cryptocotyle lingua</i>	160	497
<i>Galactosomum ussuriense</i>	179	1360 (magn.)
<i>Pseudosellacotyla lutzi</i>	198	322
<i>Oligogonotylus manteri</i>	198	356
<i>Haplorchoides mehrai</i>	200	360
<i>Metorchis intermedius</i>	211	413
<i>Cercaria tridonta</i>	350	700
<i>Cercaria translucens</i>	450	675

**Таблица 2.** Таблица, отражающая соотношение длины тела и длины хвоста церкарий некоторых *Heterophyata* (по разным авторам).

Формирование хвоста, подробно описанное Ф.Г. Рис (Rees, 1976) сочетает два процесса: вытягивание заднего конца тела (molding) и пролиферация его клеток. Первичные экскреторные поры располагаются в передней четверти хвоста. Такая же картина характерна для церкарий весьма примитивных групп (Fasciolidae, Echinostomatidae). Хвост не несет циртоцитов, а элементы выделительной системы представлены в хвосте лишь собирательными каналами и первичными экскреторными порами. По-видимому, они не функционируют. У *C. lingua* эти образования подвергаются значительной дегенерации. Функцию экскреции у зрелых церкарий (и последующих этапов гермафродитного поколения) берет на себя вторичная экскреторная пора, расположенная на поверхности каудального кармана.

Тело церкарии всегда значительно короче хвоста. Форму тела можно описать как удлиненно-коническую. Однако в силу того, что кожно-мускульный мешок в обилии снабжен кольцевой, продольной и диагональной мускулатурой, форма может меняться значительно. Последнее обстоятельство особенно актуально в момент проникновения церкарии во второго промежуточного хозяина.

Строение мускулатуры кожно-мускульного мешка церкарии гетерофиат было приведено в ряде работ (Tolstenkov, 2011; Krupenko and Dobrovolskij, 2015) на примере *C. lingua*. Под базальной пластинкой располагается три слоя мышечных волокон: слой кольцевых, продольных и диагональных. Кольцевые мышцы плотно и регулярно уложены по всей длине тела. В обилии кольцевые мышцы присутствуют в стенке каудального кармана. Продольная мускулатура более разрежена; некоторые продольные волокна сконцентрированы в месте прикрепления к каудальному карману. Пучки диагональной мускулатуры значительно отстоят друг от друга и формируют характерный решетчатый рисунок в преацетабулярном отделе тела.

Пищеварительная система гетерофиатных личинок слабо развита. Авторы (Ito, 1964) отмечают наличие короткого префаринкса, зачатка пищевода и ветвей кишечника, образованных тонкими тяжами клеток. Лучше всего заметен зачаток глотки, в котором можно выявить небольшой просвет.

Зачаток брюшной присоски у церкарий гетерофиат обычно слабо выражен. Это связано с тем, что у мари гетерофиат брюшная присоска часто бывает сильно редуцирована или модифицирована и во многих случаях связана с аппаратом оплодотворения половозрелой особи. Тем не менее, в некоторых случаях авторы все же отмечают наличие неких скоплений клеток, расположенных вентрально на уровне полового зачатка. Ф.Г. Рис (Rees, 1974) отмечает «проблемность» зачатка брюшной присоски, связанную с невозможностью



точного определения природы клеток этой зоны. Здесь, по словам автора, располагаются миобласты будущей присоски, элементы паренхимы и герминальные клетки.

Для гетерофиатных церкарий характерно наличие оформленного пула недифференцированных клеток, залегающего между железами проникновения и мочевым пузырем. Это половой зачаток, характеристики которого мало отличаются у разных представителей Heterophyata на светооптическом уровне.

Выделительная система церкарий Heterophyata представлена собирательными каналами, к которым приурочены циртоциты. Пламенные клетки собраны в группы по обе стороны тела личинки. Чаще всего встречается четырехчленный тип экскреторной формулы (две группы мерцательных клеток в передней части тела, две в задней). Однако, другие типы экскреторной формулы также возможны (пятичленный, шестичленный) (табл. 3). Главные собирательные каналы, возникающие в результате слияния передних и задних продольных канлов, формируют в своих проксимальных участках два плотных шарообразных скопления петель. Дистальные же концы каналов впадают в мочевой пузырек, который занимает в практически

всю заднюю четверть тела личинки. Стенки мочевого пузыря весьма утолщены. Многие авторы отмечают его «эпителизованность». Эти признаки по классификации Ля Рю (La Rue, 1957) являются характерными для морфологической группы Epitheliocystidea.

Во всех имеющихся описаниях гетерофиатных личинок отмечается наличие пары глаз. Глаза располагаются в передней трети тела на уровне зачатка глотки. Говоря о сенсорном аппарате церкарий гетерофиат, нельзя не упомянуть описания хетотаксии личинок. Работы, в которых приводятся схемы расположения сенсилл на туловище церкарий, единичны. Поэтому, материала для сравнения по этому вопросу мало. А.А. Манафов (2010) приводит описание хетотаксии *Cercaria heterophyes*, *Cercaria metagonimus*. По этим описаниям, практически все сенсиллы находятся на поверхности передней части тела личинки. На

Виды Heterophyata	экскреторная формула
<i>Centrocestus formosanus</i>	$2[(2+2)+(2+2)]=16$
<i>Pygidiopsis ardeae</i>	
<i>Acanthocollaritrema umbilicatum</i>	
<i>Caecicola parvulus</i>	
<i>Oligogonotylus manteri</i>	
<i>Caecicola latostoma</i>	
<i>Parastictodora hancocki</i>	$2[(3+3)+(3+3)]=24$
<i>Opisthorchis viverrini</i>	$2[(3+3)+(3+3+3)]=30$
<i>Clonorchis sinensis</i>	
<i>Cercaria metagonimus</i> sp.	
<i>Cercaria heterophyes</i> sp.	
<i>Ascocotyle angeloi</i>	$2[(2+2+2)+(2+2+2)]=24$
<i>Haplorchis taichui</i>	
<i>Haplorchoides mehrai</i>	
<i>Metagonimus miyatai</i>	
<i>Phocitrema ovale</i>	
<i>Procerovum calderoni</i>	$2[(3+3+3)+(3+3+3)]=36$
<i>Stellantchasmus falcatus</i>	6

**Таблица 3. Таблица, отражающая разнообразие экскреторных формул церкарий некоторых Heterophyata (по разным авторам).**

заднем конце тела сенсиллы сохраняются лишь на латеральных поверхностях. Больше всего сенсилл приурочено к переднему органу. Также группа сенсилл имеется на задней части хвоста.

Фаза церкарии у гетерофиат завершается проникновением во второго промежуточного хозяина, коим в большинстве случаев является рыба. Аппарат внедрения в стенки тела рыбы представлен двумя группами желез проникновения, расположенными посередине тела личинки. Число этих желез может варьировать у разных представителей. В большинстве случаев каждая группа желез представлена семьёй клетками. Протоки этих желез тянутся к переднему органу личинки по бокам от медианной линии тела личинки четырьмя группами (по две с каждой стороны: 4:3:3:4 или 3:4:4:3). Говоря о пенетрационном аппарате гетерофиат, нельзя не обратить внимание на то, что передний орган часто бывает снабжен шипами, играющими важную роль при внедрении. Ф.Г. Рис (Rees, 1974) было показано наличие четырех мощных «колючкоподобных» зубцов на дорсальной стороне переднего органа церкарии *C. lingua*.

Железистый аппарат церкарий гетерофиат был описан Ю.С. Сохранской (1994) на примере *C. lingua*. Автору, помимо вышеупомянутых желез проникновения, удалось обнаружить на поздних этапах развития церкарий пять пар вентральных мукоидных желез, большое число «чехлообразующих» желез, расположенных дорсально. Секрет этих клеток поступает в пластинку тегумента на завершающих этапах морфогенеза личинки. Обилие цистогенных желез, расположенных сплошным рядом на латеральных и на дорсальной сторонах тела личинки, выявляется на более поздних стадиях развития церкарии непосредственно перед выходом личинки в воду. По данным С.В. Щенкова, на дорсальной стороне тела личинки *Metorchis* sp. располагаются лишь четыре пары мукоидных желез. Судя по всему, это характерно для большинства Plagiorchiida.

Помимо вышеописанных железистых образований, следует отметить, что для некоторых представителей гетерофиат характерно наличие виргулы – резервуара секрета мукоидных желез (по личному сообщению С.В. Щенкова). У церкарий *Metorchis* sp. она представлена компактным четырехдольным впячиванием пластинки тегумента, расположенным в толще переднего органа. У *C. lingua* никаких подобных структур обнаружено не было.

Покинувшие редию личинки, как правило, не готовы к выходу во внешнюю среду, где им предстоит встретиться со вторым промежуточным хозяином. Часто авторы отмечают, что церкариям необходимо дозреть, находясь какое-то время в тканях моллюска (Komiya and Suzuki, 1964; Rekharani and Madhavi, 1985).

Для церкарий гетерофиат характерна стратегия активного ожидания второго промежуточного хозяина (Прокофьев и Галактионов, 2009). Данная стратегия описывается

дискретным типом плавания, при котором фазы активного движения периодически сменяются фазами покоя. Как правило, во время фазы активного движения для церкарии характерно направленное перемещение к месту встречи со вторым промежуточным хозяином. Таксис осуществляется за счет фотореакции и геореакции. Так, для церкарий *Cryptocotyle* sp. описана ситуация, при которой личинки концентрируются в поверхностных слоях воды (положительный фототаксис, отрицательный геотаксис), где встреча с рыбой, судя по всему, наиболее вероятна. Для фазы покоя характерна особая поза.

Парашиотирующий эффект во многом обеспечивается хвостовым плавником, характерным для всех представителей группы *Pleurolophocerca* (см. ниже). Такая поза позволяет церкариям парить в толще воды, медленно погружаясь. Очевидно, что такая стратегия, сочетающая черты активного поиска и пассивного ожидания, направлена на продление жизни личинки за счет оптимизации затрат энергии, что не может не считаться эволюционно сложившимся признаком специализации. Переход к такой стратегии можно наблюдать сразу в нескольких группах, однако наибольшего распространения такой тип (помимо представителей гетерофиат) получил среди фуркоцеркарий – представителей стригеидной ветви. Стоит также отметить, что церкарии гетерофиат заражают высокоподвижных хозяев (к примеру, колюшка). Таким образом, дисперсия паразита выполняется не только за счет перемещения непосредственно личинки, но и за счет второго промежуточного хозяина. Это обстоятельство немаловажно при попытке оценить эволюционный успех группы.

Для некоторых представителей характерен переход к магнацеркатным церкариям (Prevot, 1971; Rekharani and Madhavi, 1985). Их особенностью является привлечение второго промежуточного хозяина гипертрофированным хвостом, который может напоминать, к примеру, нематоду. Кроме того, церкарии одного вида могут образовывать скопления (Beuret and Pearson, 1994), именуемые “Rattenkönig”, что также является способом привлечения второго промежуточного хозяина. В этом случае говорят о зигоцеркатных церкариях. Так или иначе, скопления личинок попадают в хозяина (рыбу) пассивно. Подобный переход наблюдается в нескольких филогенетически отдаленных группах.

Значительно отличаются судьбой личинок от вышеописанных гетерофиат представители рода *Metagonimoides* (Ingles, 1935; Burns and Pratt, 1953). Авторы работ, в которых рассматривается жизненный цикл *M. oregonensis*, отмечают наличие двух типов церкарий. Личинки первого типа, в целом, соответствует таковым у других Heterophyata. Единственное отличие заключается в наличие плавниковой мембраны лишь на вентральной стороне хвоста. Личинки второго типа никогда не выходят во внешнюю среду. У таких личинок, находящихся в дочерней редии, дегенерирует хвост, и они покрываются оболочками цисты. Таким образом, фаза церкарии здесь фактически выпадает. Большинство

редий *M. oregonensis* содержат развивающихся метацеркарий. Первый промежуточный хозяин фактически становится вторым промежуточным.

### **Метацеркария.**

Как говорилось выше, встретившись со вторым промежуточным хозяином (рыбой или амфибией), церкария гетерофиат прикрепляется к его покровам ротовой присоской (передним органом) и, отбросив хвост, начинает внедряться в стенку тела. Для некоторых церкарий описано наличие вокруг тела неких слизистых шнуров, которые, по мнению авторов, играют роль при встрече со вторым промежуточным хозяином. При соприкосновении рыбы с такими шнурами устанавливается контакт с церкарией. В таком случае личинки успешно достигают покровов рыбы. Как правило, метацеркарии гетерофиат обнаруживаются в мышцах. Однако, столь глубокое проникновение происходит далеко не всегда. На *Monorchotrema taihokui* показано (Faust and Nishigori, 1926), что цисты в теле зараженной рыбы встречаются и на чешуе, на плавниках и на жабрах. Также для некоторых представителей описано, что церкарии, чья встреча с рыбой не произошла, могут инцистироваться во внешней среде.

Формирование цисты было изучено на примере представителя вида *Stictodora lari* (Leong and Howell, 1971). Авторы выделяют три этапа формирования оболочек цисты. Первичная оболочка метацеркарии *S. lari* является продуктом цистогенных желез, секрет которых, накапливаясь в тегументе, выделяется на поверхность тела. В таком состоянии, по наблюдениям авторов, циста остается до 35-ти дней. Далее вокруг цисты образуется соединительно-тканная капсула, которая и являет собой второй слой. За этим следует выделение гранул секрета клетками стенок мочевого пузырька.

Фаза инцистированной личинки у некоторых трематод может быть описана как фаза ожидания попадания в окончательного хозяина. Морфогенетические процессы (маритогония) у таких представителей смещены на другие стадии жизненного цикла. Судя по всему, такого нельзя сказать про гетерофиат. Фаза метацеркарии здесь играет наиважнейшую роль. Именно на этой стадии происходит большая часть процессов морфогенеза половозрелой особи. Через оболочки цисты личинка снабжается питательными веществами от второго промежуточного хозяина, что и позволяет ей наиболее эффективно претерпевать метаморфоз.

Ф.Г. Рис (Rees, 1979) было подробно исследовано развитие половой системы *C. lingua* от начала инцистирования во втором промежуточном хозяине до половозрелой мариты. У десятидневной метацеркарии уже имеются три зачатка гонад, представляющие собой группы недифференцированных клеток, располагающиеся возле мочевого пузырька. Одна

группа, лежащая ближе к переднему концу – зачаток яичника, две других – зачатки семенников. На тридцать восьмой день после инцистирования, гонады можно считать уже полностью сформированными. Они близки к размерам гонад половозрелой особи и уже окружены «базальной пластинкой». Дальнейшего развития гонад на стадии метацеркарии не происходит. Зачаток матки после тридцати восьми дней инцистирования представляет собой тяж вакуолизированных клеток. Форма этого тяжа полностью соответствует форме матки половозрелой мариты. Дальнейшее развитие происходит уже после выхода из оболочек цисты в пищеварительной системе окончательного хозяина. Здесь появляется просвет матки. Такой результат достигается за счет слияния вакуолей клеток вышеупомянутого тяжа.

Нет оснований считать, что картину, характерную для *Cryptocotyle*, можно проецировать на всех гетерофиат. Судя по всему, органы половой системы инвазивной стадии *Heterophyata* могут быть развиты в самой разной степени. Так, для некоторых представителей описаны прогенетические метацеркарии. Справедливости ради стоит отметить, что речь идет о весьма необычном прогенезе. Пампули и др. утверждают, что (Pamproulie et al., 2000) фаза метацеркарии у *Aphalloides coelomicola* отсутствует в жизненном цикле. Рыба *Pomatoschistus microps* играет для этого представителя роль и второго промежуточного и окончательного хозяина. Церкария, проникнув через покровы рыбы, мигрирует в полость тела, где и достигает половозрелости.

Для некоторых представителей отмечено влияние метацеркарий на поведение второго промежуточного хозяина (Lafferty et al., 2000). Метацеркарии *Euhaplorchis californiensis* выделяют фактор роста фибробластов. Вследствие этого второй промежуточный хозяин – рыба *Fundulus parvipinnis* – начинает хаотично перемещаться в водоеме, становясь легкой добычей для хищника.

### **Марита.**

Традиционно большая часть литературы, посвященная описанию трематод ограничивается характеристиками половозрелой стадии гермафродитного поколения – мариты. Это же можно сказать и про гетерофиат. Однако, несмотря на обилие схем половозрелых особей, многие детали строения нуждаются в уточнении. Авторы, в чьих работах рассматривается морфология марит, как правило, приводят данные по таким признакам, как общие пропорции тела (размер, форма, соотношение преацетабулярный отдел/постацетабулярный отдел и т. д.), характер расположения органов половой системы, форма мочевого пузырька, строение совокупительного аппарата. Последнему признаку в литературе по гетерофиатам уделяется особое внимание в силу его «уникальности» (см.

ниже). Именно по строению аппарата оплодотворения часто производились филогенетические построения в пределах группы Heterophyata.

Мариты гетерофиат весьма небольшие, их длина редко превышает 8мм (табл. 4). Форма сильно варьирует у представителей разных родов. Встречаются как более округлой формы мариты (*Cryptocotyle concavum*), так и весьма вытянутые (*Opisthorchis longissimus*).

Спектр хозяев, в пищеварительной системе которых метацеркария освобождается от оболочек цисты, велик. Мариты гетерофиат обнаруживаются в кишечнике многих водоплавающих птиц, рыбоядных рыб,

разнообразных млекопитающих (в том числе человека). Многие гетерофиаты поражают печень и желчный пузырь окончательного хозяина. Для некоторых представителей характерно паразитирование в органах половой системы. Так, мариты *A. amiuri*, детально изученные Перкинсом (Perkins, 1956), обнаруживаются на поверхности яйцеклеток сомов. Также иногда бывает поражен плавательный пузырь некоторых рыб.

Характеристики передней части тела гетерофиатных марит сильно варьируют. Различия в первую очередь

касаются формы, размера ротовой присоски, ее расположения. Так, ротовая присоска *Stegopa lopastoma* овальной формы занимает значительную долю поверхности тела мариты. Ширина такой присоски соответствует или близка к максимальной ширине тела. У некоторых представителей ротовая присоска приобретает форму воронки (i.e. *Pseudocryptogonimus cirrhiti*, *Bolbogonotylus corkumi*). Ротовая присоска может быть окружена воротником (*Orientodiploproctodaeum diacanthi*). У некоторых гетерофиатных марит ротовая присоска входит в состав широкой лопасти – видоизмененного переднего конца тела (*Scaphanocephalus* sp.). Во всех остальных случаях говорят о терминальном или субтерминальном расположении присоски. Для немногих представителей характерна высокая степень редукции ротовой присоски (*Erschoviorchis lintoni*, *Euamphimerus pancreaticus*). Для подсемейства *Diasiellinae* отмечают полное отсутствие таковой.

Передний конец тела зачастую снабжен оружием из шипов тегумента. Шипы могут быть развиты в разной степени. У некоторых представителей (*Ascocotyle* sp., *Centrocestus*

Виды Heterophyata	длина, $\mu\text{m}$	ширина, $\mu\text{m}$
<i>Procerovum varium</i>	271	103
<i>Stellanthasmus falcatus</i>	321	176
<i>Caecicola parvulus</i>	338	175
<i>Haplorchis pumilo</i>	359	173
<i>Procerovum calderoni</i>	413	195
<i>Ascocotyle angeloi</i>	697	206
<i>Metagonimus miyatai</i>	810	438
<i>Pygidiopsis macrostomum</i>	840	480
<i>Acanthocollaritrema umbilicatum</i>	1063	376
<i>Stictodora cursitans</i>	1095	255
<i>Acanthotrema armata</i>	1355	319
<i>Cryptocotyle lingua</i>	1550	740
<i>Acetodextra amiuri</i>	3200	1140
<i>Metorchis xantosomus</i>	3400	850
<i>Opisthorchis viverrini</i>	7400	1470

Таблица 4. Таблица, отражающая размерные характеристики марит некоторых Heterophyata (по разным авторам).

*formosanus*, *Lobosorchis tibaldiae*) крупные шипы формируют сплошной слой по краю ротовой присоски, у других они могут быть меньше.

Общие черты пищеварительной системы марит Heterophyata соответствуют таковым у других трематод. На дне ротовой присоски ротовое отверстие открывается в префаринкс, который может быть развит в разной степени. Префаринкс ведет в глотку, от которой берет начало пищевод. Средняя кишка разделяется на две ветви кпереди от брюшной присоски. Ветви, как правило, тянутся до заднего конца тела мариты, где они слепо заканчиваются. Однако в некоторых случаях ветви заканчиваются чуть ниже (*Adleriella minutissima*), на уровне (*Campehetrema herrerae*) или даже перед брюшной присоской (*Ascocotyle* sp.).

Брюшная присоска марит может быть развита в разной степени. У некоторых представителей она сильно развита и превышает размеры ротовой присоски (*Heterophyes nocens*), у других она может подвергаться значительной редукции (*Cryptocotyle lingua*). Редукция брюшной присоски в первую очередь характерна для тех марит гетерофиат, у которых она входит в состав совокупительного аппарата. Видоизменения связаны с тем, что брюшная присоска при погружении в генитальный синус (см. ниже) перестает выполнять классическую функцию и играет роль в процессе оплодотворения.

Для марит Heterophyata характерно существенное смещение половой системы к заднему концу тела. Поэтому, как и у большинства трематод, можно условно выделить два отдела тела мариты: задний – неподвижный, по сути «мешок» с органами половой системы, и передний – подвижный. Такое условное разделение подкрепляется тем фактом, что шипы тегумента, обильно представленные в передней половине тела, значительно редуют к заднему концу. Это отчетливо видно на сканограммах марит *Haplorchis pumilio* и *Pygidiopsis macrostomum*, представленных Туанчай Сризавангвонк с соавторами (Tuanchai Srisawangwonk et al., 1989), а также Симоёс с соавторами (Simões, Barbosa and Santos, 2005). В строении мускулатуры такое смещение проявляется еще на ранних стадиях развития гермафродитного поколения. На церкариях *C. lingua* показана большая степень развитости мускулатуры кожно-мускульного мешка преацетабулярного отдела тела. В первую очередь это касается диагональной мускулатуры (Tolstenkov, 2011; Krupenko and Dobrovolskij, 2015).

Однако не у всех гетерофиат это смещение так ярко выражено. Морозов (1952) выделяет морфологический ряд перехода к такому состоянию. Связывает он этот переход с тем, что представители гетерофиат, сохранившие исходный тип расположения органов (отсутствие дифференциации на два отдела), паразитируют в кишке рыбоядной рыбы. Кишка рыб не обладает сильной перистальтикой, поэтому паразиту в таких условиях «необязательно» иметь подвижный передний конец тела. Гетерофиаты, перешедшие к паразитированию в кишечнике птиц, наглядно демонстрируют функциональное разделение тела. Морозов связывает это с тем, что кишечник птиц отличается более сильной перистальтикой.

Строение половой системы марит Heterophyata отвечает единому плану строения. Тем не менее, есть множество исключений, связанных либо с отличным от типичного числом органов половой системы, либо с отсутствием некоторых структур. Самым разным может оказаться взаимное расположение органов половой системы.

Как правило, в теле мариты имеется два семенника, расположенных в задней части тела. Однако в некоторых случаях имеет место единственный семенник. Для некоторых представителей характерно множество семенников (до девяти – *Acantosiphodera bengalensis*). Семенники в большинстве случаев располагаются симметрично, но возможно и тандемное (*Parametorchis complexus*), и диагональное (*Metorchis albidus*) расположение. Почти никогда семенники не заходят в преацетабулярный отдел. От семенников отходят семявыносящие каналы, объединяющиеся в срединной части тела в семяпровод. Обычно в преацетабулярном отделе располагается семенной пузырек. Семяпровод открывается в районе брюшной присоски отдельной генитальной порой или таковой в составе общего гермафродитного протока.

Яичник гетерофиат почти всегда располагается кпереди от семенников в задней части тела. Яичник может быть лопастным (*i.e. Cladocystis trifolium*) или целостным (у большинства). Через овикапт ооциты первого порядка поступают в яйцевод, где оплодотворяются запасенными в семяприемнике спермиями. Лауреров канал присутствует у большинства гетерофиат, однако в ряде случаев может отсутствовать. В тельце Мелиса ооциты вместе с желточными клетками покрываются яйцевыми оболочками. Яйца поступают в матку. Матка у всех гетерофиат сильно развита. Множество петель матки может быть расположено в теле самым разным образом. В равной степени исследователь может встретить мариту, у которой матка расположена кпереди от яичника и семенников, и ту, у которой от яичника петли отходят к заднему концу, а затем поворачивают к переднему. Матка открывается в районе брюшной присоски отдельной генитальной порой или таковой в составе общего гермафродитного протока.

Одной из значимых синапоморфий гетерофиат принято считать видоизмененный аппарат оплодотворения. Однако весьма затруднительно дать ему четкое определение. Его строению уделяется большое внимание в каждой работе с описанием половозрелой формы. Трудности же связаны с тем, что совокупительный аппарат подвержен значительным вариациям у разных представителей группы. В то же время многие авторы используют одинаковые термины для описания морфологически разных структур. Или же разные термины при описании схожих структур. В данном обзоре остановимся лишь на нескольких типах аппарата оплодотворения гетерофиат.

Прежде чем перейти непосредственно к описаниям совокупительных аппаратов, необходимо попробовать разобраться в терминологии, используемой авторами. Гонотиль,



половая присоска, вентро-генитальная присоска, генитальный синус, генитальная сумка, вентро-генитальный атриум – вот лишь часть терминов, используемых разными авторами при описании аппарата оплодотворения. Одно разнообразие таковых намекает на имеющуюся в литературе путаницу касательно этого вопроса. Пожалуй, наиболее структурированный анализ этой терминологии был представлен в работах Кэйбла и Ханнинена, Пирсона и Ф.Г. Рис (Cable&Hunninen, 1942; Pearson, 1963, 1974; Rees, 1978). Самым противоречивым термином справедливо считать **гонотиль**. Термин был предложен Витенбергом (Witenberg, 1929) для обозначения конической формы папиллы, расположенной на дне **генитального или вентро-генитального атриума** (впячивание срединной части тела, в состав которого входят копулятивные поры, а во втором случае и брюшная присоска). Некоторыми авторами гонотиль определяется как **половая присоска** (Морозов, 1952). В нескольких работах такой подход подвергается критике. Основным аргументом является отсутствие в гонотиле мускулистой «капсулы», отделенной от основной массы мышц кожно-мускульного мешка. То есть, мускулатура гонотили непосредственно связана с мышцами КММ. Проблему осложняет то обстоятельство, что для некоторых представителей используется термин **вентро-генитальная присоска** (Hsu, 1951). Пирсон (Pearson, 1963) выступает против такого обозначения, утверждая, что объединения гонотили с брюшной присоской никогда не происходит. В то же время Ф.Г. Рис (Rees, 1978), детально изучив ультраструктуру гонотили *C. lingua*, определила его апикальную часть именно как брюшную присоску. Дабы окончательно запутать читателя, стоит обратить внимание на то, что нередко ситуация, при которой авторы ошибочно называют гонотилем видоизмененную брюшную присоску. Видоизменение связано с глубоким погружением последней в вентро-генитальный атриум и утратой классической функции прикрепления. Завершая описание этого терминологического сумбура можно отметить, что до появления термина гонотиль, авторы пользовались такими названиями, как «подобное циррусу тельце» (cirrus-like body) (Linton, 1915), «генитальная папилла» и т. д.

Из сказанного ясно, что одной из важнейших задач исследователя, описывающего аппарат оплодотворения марит гетерофиат, следует считать корректное определение тех или иных структур. Так, для того, чтобы отличить модифицированную брюшную присоску от гонотили, актуальными становятся два подхода. Во-первых, можно исследовать копулятивный аппарат на ультраструктурном уровне. Во-вторых, во время морфогенеза мариты эти структуры возникают в разное время; похоже, гонотиль развивается позже. Оба подхода были использованы Ф.Г. Рис (Rees, 1977)(см. ниже).

Судя по всему, с утратой цирруса и бурсы цирруса, гетерофиаты начали решать проблему оплодотворения различными путями. С этим и связано разнообразие

совокупительных аппаратов в пределах группы. При описанной ситуации актуальными становятся попытки построения морфологических рядов.

Пирсон (Pearson, 1976) полагает, что простейшим вариантом аппарата оплодотворения можно считать таковой у *Opisthorchis*. Здесь отсутствует генитальный синус и, как следствие, гонотиль. Кпереди от развитой брюшной присоски лежит генитальная пора. Зона вокруг поры (включающая брюшную присоску) весьма подвижна, обильно снабжена мускулатурой, что позволяет наиболее эффективно производить оплодотворение. Такой вариант характерен для многих представителей (*i.e.* *Clonorchis* sp., *Metorchis* sp., *Andritrema ellipticum*). Степень подвижности вышеобозначенной зоны может варьировать. Так, для некоторых представителей отмечают наличие «ножки», включающей брюшную присоску и генитальную пору (*Paropisthorchis caninus*).

Предположительно, дальнейшие эволюционные преобразования связаны с погружением генитальной поры в генитальный атриум (=синус). Такое впячивание вентральной поверхности обычно бывает снабжено развитым мышечным аппаратом. Это позволяет выставлять наружу зону с генитальной порой при копуляции. Стенки генитального атриума часто снабжены мощными шипами тегумента, выполняющих функцию закрепления при оплодотворении. В таком случае брюшная присоска может по-прежнему оставаться весьма развитой. Особый интерес вызывает взаимное расположение брюшной присоски и отверстия атриума. Встречаются самые разные сочетания. Атриум может быть расположен сбоку (*Heterophyes nocens*), за (*Heterophyopsis continua*) или перед брюшной присоской (*Metagonimus takahashi*). В некоторых случаях обе структуры могут «съезжать» к латеральной поверхности тела (*Metagonimus takahashi*).

У многих гетерофиат погружение затронуло не только генитальную пору, но и брюшную присоску. В таких случаях говорят о наличии вентро-генитального синуса. Так, зона вентральной поверхности *Centrocestus formosanus*, *Pholeter gastrophilus*, включающая генитальную пору и брюшную присоску, в определенной степени погружена вглубь тела. Брюшная присоска сохраняет здесь типичное строение и способна выворачиваться вместе с генитальной порой при копуляции.

У многих представителей на дне вентро-генитального синуса развивается одна или несколько мускулистых папилл – это гонотили. Степень развитости и положение в атриуме гонотилия очень сильно варьирует. Гонотиль может быть представлен сосочком, не связанным с половыми отверстиями. Такой сосочек располагается вне вентро-генитального синуса. Гонотиль с апикальным положением половых отверстий может занимать весь синус. Половые протоки женской и мужской половой системы могут сливаются вместе, образуя короткий гермафродитный проток. Наиболее интересным представляется сочетание гонотилия с брюшной присоской в пределах вентро-генитального синуса. У многих

гетерофиат гонотиль весьма развит наряду с брюшной присоской типичного строения (*Pygidiopsis* sp., *Ascocotyle* sp.). Однако у некоторых, сочетание может приводить к сильным видоизменениям (см. далее).

Одним из наиболее специализированных копулятивных аппаратов можно считать таковой *Cryptocotyle*. Строение гонотилия *C. lingua* было подробно рассмотрено Ф.Г. Рис (Rees, 1977) на ультраструктурном уровне. Гонотиль *C. lingua* являет собой мускулистую папиллу конической формы, расположенную на задней стенке вентро-генитального синуса – впячивания поверхности вентральной стороны тела мариты. Апикальная часть гонотилия расценивается Рис как видоизмененная брюшная присоска. Таким образом, в данном случае, можно говорить о вентро-генитальном комплексе, который помимо вышеупомянутых структур включает в себя передний карман. Передний карман играет важную роль в процессе копуляции. Для марит *C. lingua* характерна поза копуляции, при которой две особи располагаются вентральными сторонами друг к другу в противоположном направлении так, что вентро-генитальный комплекс одной особи примыкает к вентро-генитальному комплексу другой. Передний карман здесь выполняет функцию сайта закрепления апикальной части гонотилия партнера. Обычно передний карман в обилии армирован шипиками тегумента, что усиливает эффект закрепления. Половые отверстия находятся в самом основании гонотилия. Причем при описанном расположении особей *in copula*, мужское половое отверстие каждой особи находится точно напротив женского. Вентро-генитальный комплекс снабжен сложным мышечным аппаратом, включающим радиальные, кольцевые и продольные мышечные волокна.

Опианный вентро-генитальный комплекс *C. lingua* достигает полного развития у особи, которая еще находится под оболочкой цисты во втором промежуточном хозяине. Сначала на вентральной поверхности развивается брюшная присоска, затем гонотиль.

Стоит еще раз отметить, что строение совокупительного аппарата гетерофиат не ограничивается вышеперечисленными типами. Самым разным может быть положение генитальной поры (или пор) относительно брюшной присоски. Для некоторых гетерофиат описано наличие множества гонотилей, располагающихся кпереди от брюшной присоски. Последнее плохо соотносится с терминологией Витенберга (Witenberg, 1929), однако авторы называют эти структуры именно гонотилиями. Также встречается ситуация, при которой генитальная пора открывается на поверхности брюшной присоски (*Pseudopygidiopsis* sp.).

Безусловно, утрату бурсы цирруса можно считать чертой специализации Heterophyata. Аппарат оплодотворения Heterophyata является уникальным в пределах всех Trematoda и, вероятно, развился *de novo*, а не был унаследован от анцестральных форм. Морозов (Ф.Н. Морозов, 1952) считал, что «половая присоска» гетерофиид голмологична грушевидным органам турбеллярий, встерчающимися у различных представителей Acoela и Polycladida.

Такая гомология крайне сомнительна в силу филогенетической отдаленности между перечисленными группами турбеллярий и Neodermata в целом.

### **История таксона и современные представления.**

Таксономическая история группы Heterophyata сложна и полна противоречий. Название таксона было впервые предложено Морозовым в 1955 году и включало три надсемейства: Heterophyoidea, Opisthorchioidea, Microphalloidea. В большей части литературы до этого момента представители трех надсемейств рассматривались отдельно. Фауст (Faust, 1929) обосновал надсемейство Opisthorchioidea, включая туда единственное семейство – Opisthorchiidae Looss, 1899. Забавным образом в том же году Витенберг (Witenberg, 1929) предложил под этим же названием объединять семейства Heterophyidae Leiper, 1909 и Opisthorchiidae. Тем не менее мнение Фауста оказалось более авторитетным и долгое время эти два семейства не рассматривались вместе. Исключением можно считать литературу, посвященную церкариям трематод. Здесь авторы и до работы Фауста отмечали явное сходство между личинками гетерофиид и описторхиид. Проследить дальнейшую историю гетерофиат достаточно сложно. Во-первых, семейства, если можно так выразиться, существовали весьма самобытно, вне зависимости друг от друга. Многие авторы разбивали каждое из двух семейств на несколько самостоятельных. Еще труднее проследить динамику выделения подсемейств в пределах этих групп. Во-вторых, естественным образом таких систематических работ появлялось довольно много, и их характер в большой степени определялся школой трематодологов, работающих в данной области. Важным с современной точки зрения обстоятельством можно считать включение в надсемейство Opisthorchioidea группы Cryptogonimidae Ciurea, 1933 (Price, 1940). Криптогонимиды с тех пор не меняли своего положения в системе.

В системе Ля Рю (La Rue, 1957) надсемейство Opisthorchioidea включает 6 семейств. названия трех из них «дожили» до сегодняшнего момента, представители других трех рассортировались по первым. В целом, надо признать, что от исходных группировок, предложенных Фаустом, Витенбергом, остались скорее лишь названия. А представители представителей таксонов перетасовались самым разным образом.

В настоящее время нет устоявшейся системы группы Heterophyata. Большинство работ, посвященных систематике гетерофиат, основываются лишь на некоторых морфологических характеристиках половозрелых марит. Такой подход вызывает сомнения у многих исследователей. В работе У. Тэнхам и др. (Thaenkhram et al., 2012) рассмотрены таксономические отношения семейств Heterophyata (Opisthorchioidea). Основываясь на

молекулярных данных (18S rDNA и ITS последовательности), авторы делают заключение о парафилии семейств Heterophyidae и Opisthorchiidae. Достойной реконструкции филогении Heterophyata, основывающейся на сравнении морфологических характеристик различных стадий жизненного цикла, на данный момент не существует.

## • ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

### Цель:

1. Сравнение морфологических особенностей стадий гермафродитного поколения (церкарий и марит) в пределах группы а также стадий партеногенетического поколения Heterophyata с таковыми Plagiorchiata.

### Задачи:

1. Сведение воедино накопленных к сегодняшнему дню данных по всем стадиям жизненного цикла Heterophyata.
2. Изучение ранних стадий развития материнской спороцисты Heterophyata на примере *Cryptocotyle lingua*.
3. Изучение морфологических особенностей редий Heterophyata.

## • МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы были собраны летом и осенью 2015-го года. Экспериментальными объектами послужили представители *C. lingua* и *Metorchis* sp.

Яйца *C. lingua* были получены из полярных крачек *Sterna paradisaea*, отловленных в Кандалакшском заливе Белого моря в период с 15 июля по 10 августа 2015-го года. Содержались яйца в морской воде при температуре 4°C. В течение нескольких месяцев (по апрель месяц включительно) они сохраняли жизнеспособность и использовались нами для проведения наблюдений и получения вылупившихся мирацидиев.

Мирации, находящиеся под яйцевыми оболочками исследовались на светооптическом уровне с использованием контраста Номарского (микроскоп LeicaDM2500).

Для вылупления мирацидиев использовали неспецифичного хозяина — моллюсков *Hydrobia ulva*. С момента сбора до использования моллюсков в экспериментах их выдерживали в лабораторных условиях в течение 2—3 месяцев, для того чтобы выявить природное заражение. Отобранным для эксперимента моллюскам скармливались яйца, содержащие зрелых личинок. Через 30—60 минут моллюски вскрывались. У них удалялся кишечник. Из содержимого кишечника были изготовлены мазки, зафиксированные насыщенным раствором сулемы. В дальнейшем мазки окрашивались гематоксилином Эрлиха с последующим заключением в канадский бальзам. Такие же мазки обязательно

исследовались *in vivo*. Как и в случае с яйцами, для изучения вылупившихся мирацидиев использовался контраст Номарского (микроскоп LeicaDM2500).

Кроме того, экспериментально инвазированных моллюсков, выдерживали в течение 2-х суток после заражения и только после этого их вскрывали и целиком фиксировали в жидкости Ценкера. Из зафиксированных и залитых в парафин моллюсков были изготовлены серии срезов на ротационном микротоме Leica RM. Для окраски срезов был использован гематоксилин Эрлиха и эозин.

Моллюски *Bithynia tentaculata*., зараженные *Metorchis* sp. были собраны из озера Бауши и из Кристателлевого пруда в парке Сергиевка (Петродворцовый район).

Зараженные моллюски были вскрыты. Кусочки гепатопанкреаса, содержащие редий и формирующихся церкарий были зафиксированы жидкостью Ценкера. Объекты обезживались в восходящем ряду спиртов и после пропитки хлороформом заключались в парафин. Срезы толщиной 5  $\mu$ m изготавливали на ротационном микротоме Leica RM. Срезы депарафинизировались в нисходящем ряду спиртов, окрашивались гематоксилин-эозином и заливались в канадский бальзам.

## • РЕЗУЛЬТАТЫ

### Мирацидий

Мирацидий *C. lingua* весьма небольшой, овальной формы. В вытянутом состоянии его размеры могут достигать 40-50  $\mu\text{m}$ . Покровы личинки представлены двумя поперечными рядами безъядерных эпителиальных пластинок. Эпителиальные пластинки несут множество длинных ресничек. На заднем конце тела пластинки образуют утолщение. У мирацидия, находящегося под яйцевыми оболочками, граница между двумя рядами эпителиальных клеток хорошо заметна, поскольку цилии переднего и заднего рядов лежат под разными углами к поверхности личинки. Реснички заднего ряда более плотно прижаты к телу. Яйца, содержащие личинок, овальной формы; оперкулом закрыт круглой крышечкой. Длина яиц около 50  $\mu\text{m}$ . Мирацидий занимает большую часть объема яйца (рис. 4-5). Пространство между личинкой и скорлупкой заполнено гетерогенным содержимым, представленным липидными гранулами, слизистым матриксом, пигментированными вакуолями. Функциональное назначение этого содержимого не до конца ясно. Является ли оно слизистой пробкой, участвующей в процессах вылупления, или это продукты жизнедеятельности развивающегося эмбриона и уже сформированного мирацидия.

Личинка в яйце находится в состоянии полного покоя. Сокращения мускулатуры при комнатной температуре происходят не чаще, чем раз в две минуты. При добавлении к яйцам гомогената из моллюсков рода *Hydrobia* наблюдалось значительное учащение сокращений, однако вылупления не происходило.

Клетки мирацидия, находящегося в яйце, очень плотно уложены. Большую часть тела личинки занимает обширная безъядерная железа неясного функционального назначения (НФН). Эта железа легко узнается по узкому дугообразно изогнутому протоку,

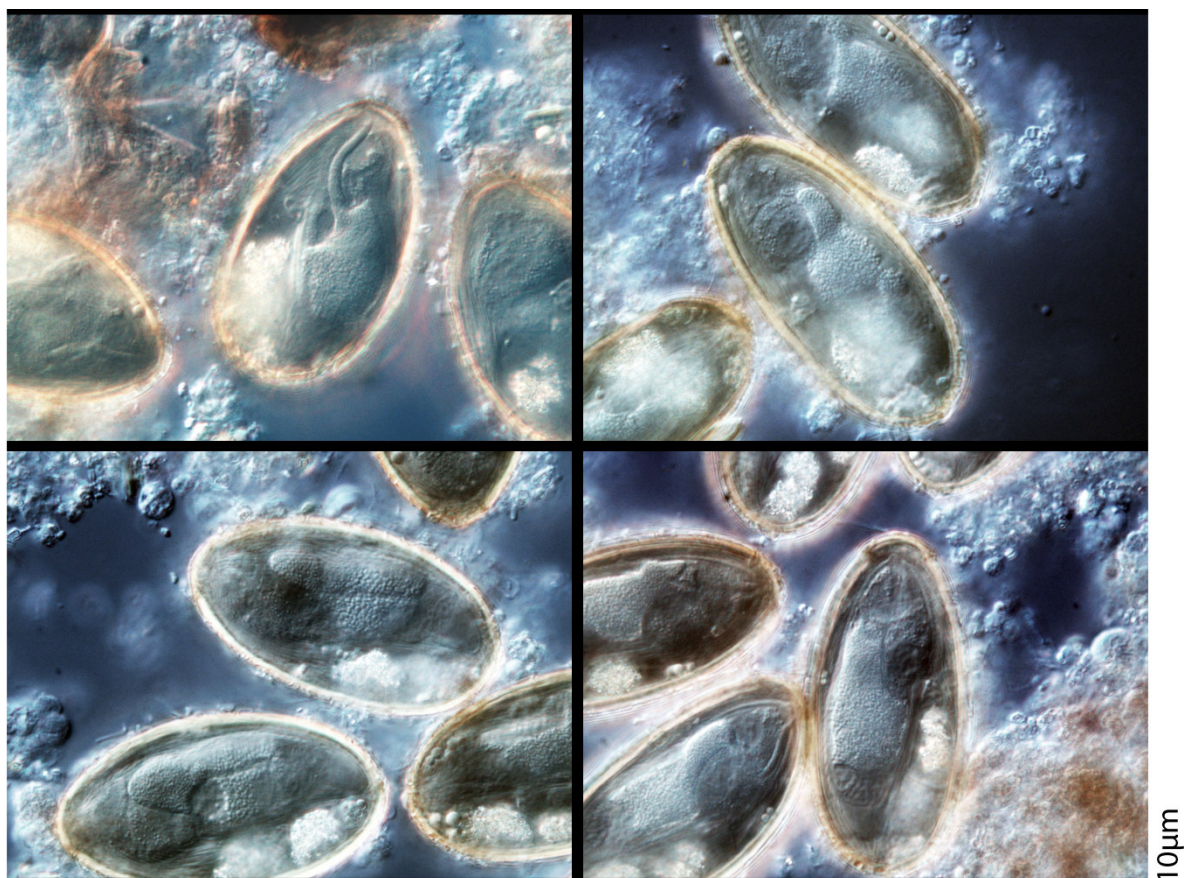


Рис. 4. Яйца *C.lingua*, содержащие мирацидиев. Фотографии. Левая верхняя: железа выделения и ее проток. Правая верхняя: две одноядерные железы в передней трети тела. Левая нижняя: канал протонефридия. Правая нижняя: «задние» клетки.

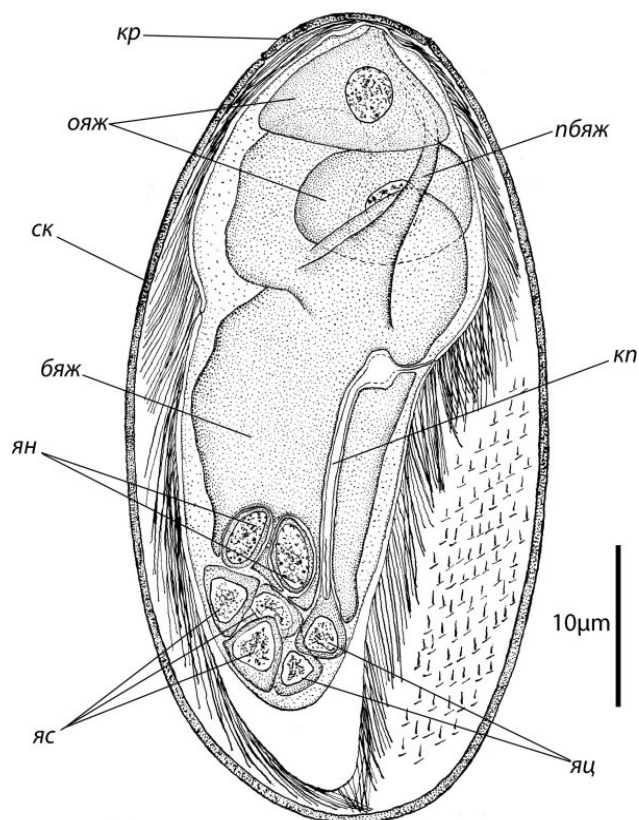


Рис. 5. Мирацидий в яйце. бяж – безъядерная железа; пбяж – проток безъядерной железы; кп – канал протонефридия; ск – скорлупка яйца; кр – крышечка, ояж – одноядерные железы; ян – ядра недифференцированных клеток; яс – ядра соматических клеток; яц – ядра цитотрофа



располагающемся в передней части личинки. Проток открывается на переднем конце тела мирацидия. Форма железы НФН непостоянна. При активном сокращении мирацидия создается впечатление, что железа состоит из переднего и заднего компартментов. Зернистый секрет железы свободно перемещается по ним. Именно от переднего компартмента отходит проток железы, который, будучи весьма широким у основания, сильно сужается к переднему концу. Передняя часть железы НФН «обволакивает» две одноядерные железы, которые у невылупившегося мирацидия расположены одна за другой. Одноядерные железы занимают переднюю треть тела мирацидия. Их ядра отчетливо видны на мазках, окрашенных гематоксилином.

Большинство клеток мирацидия компактно уложены в задней части тела. На мазках, окрашенных гематоксилином, здесь наблюдается семь ядер. Пять из них небольшого размера; в силу плотной упаковки характеризуются полигональной формой. Два ядра из этих пяти принадлежат циртоцитам. Циртоциты неактивны у большинства личинок, однако у нескольких экземпляров удалось пронаблюдать их работу. Судя по всему, циртоцит несет единственную весьма длинную ресничку, направленную в сторону канала. Канал протонефридия весьма длинный; у невылупившегося мирацидия он сдавлен железой НФН («впячен» в ее поверхность). В силу того, что протонефридии оказываются сильно разнесены в теле железой НФН, ни в одном яйце не удалось пронаблюдать оба протонефридия. Экскреторный канал открывается на границе между двумя рядами эпителиальных пластинок. Довольно часто в срединной части невылупившегося мирацидия наблюдалось некое шарообразное вздутие, погруженное в железу НФН. У некоторых мирацидиев была замечена связь этого вздутия с каналом протонефридия. Возможно, это артефакт, возникший в связи с накопленной и невыделенной протонефридием жидкостью. Принадлежность остальных трех ядер из этой группы остается неясной. Вероятно, это ядра соматических клеток (см. обсуждение).

Два ядра располагаются ближе к переднему концу вблизи от вышеописанной группы из пяти ядер. Оба ядра характеризуются большими размерами и овальной формой. Предположительно, это ядра недифференцированных зачатковых клеток (см. обсуждение).

Вылупившиеся мирацидии обнаруживались на живых мазках кишечного содержимого *Hydrobia ulva* через час после скармливания моллюскам яиц *C. lingua*. Механизм вылупления не ясен. Вышедшая из оболочки яйца личинка малоподвижна (рис. 6-7). Перемещение осуществляется за счет периодических сокращений мускулатуры и медленных движений цилиатуры. У вылупившегося мирацидия клетки лежат более рыхло, чем у невылупившегося. Пара одноядерных желез «выравниваются» в передней трети тела личинки. Железа НФН сохраняет свой двучастный облик. Секрет этой железы становится

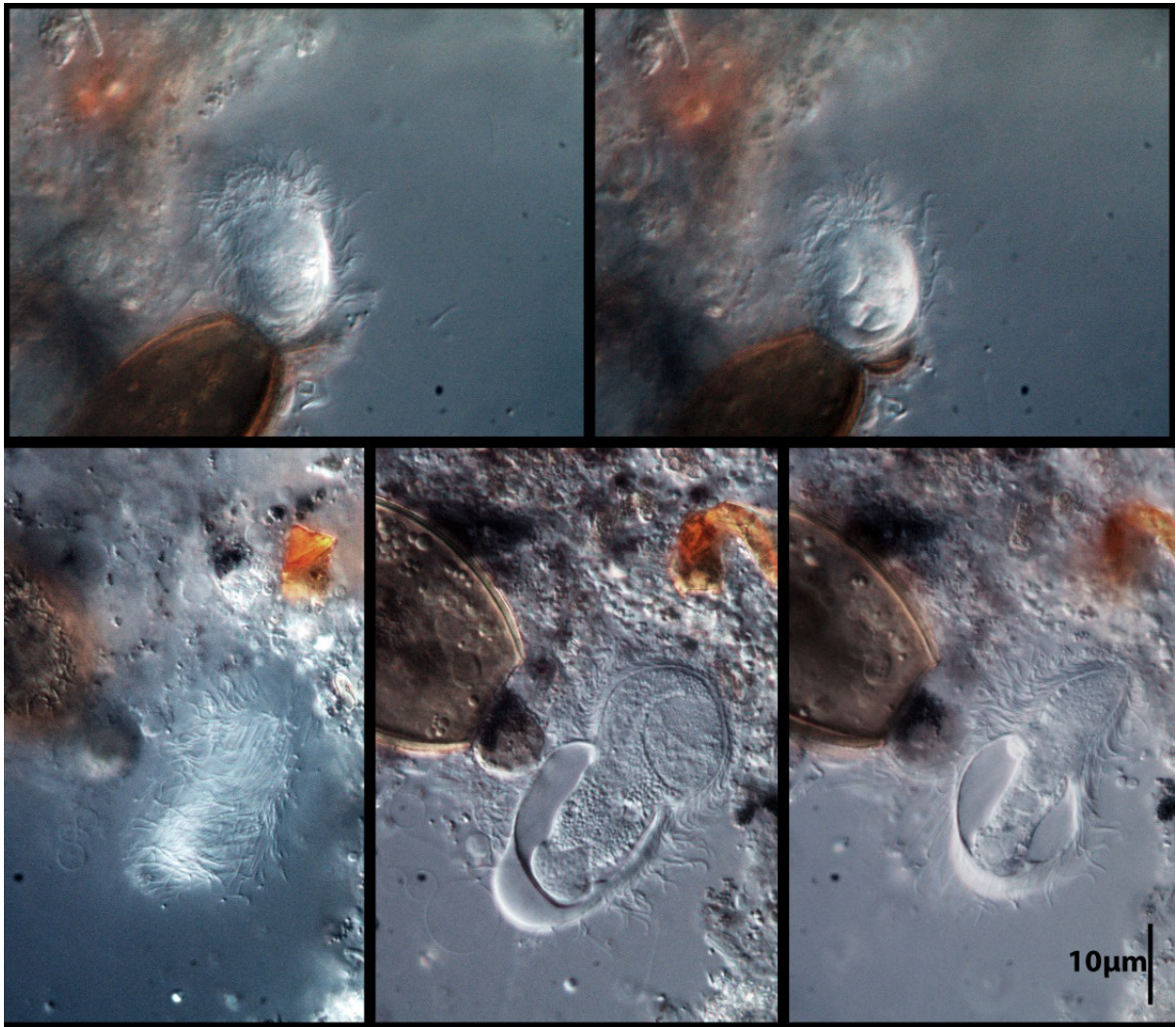


Рис. 6. Вылупившиеся мирации.

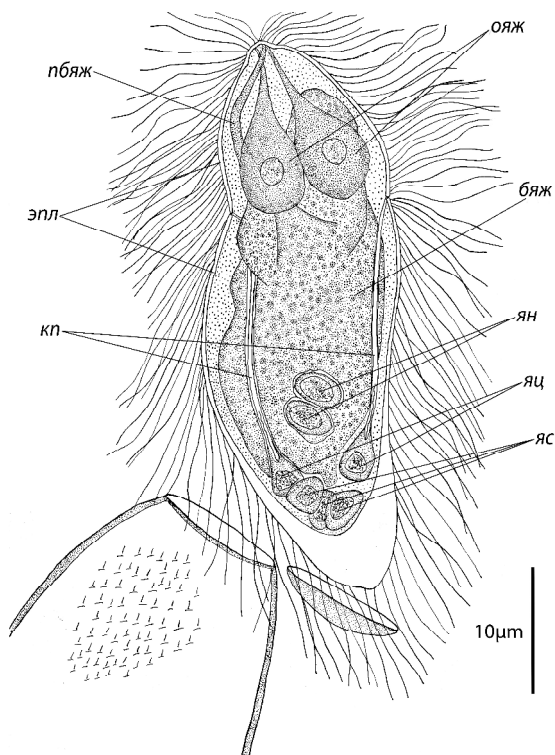


Рис. 7. Схема вылупившегося мирация. Подписи, как на рис. 5.

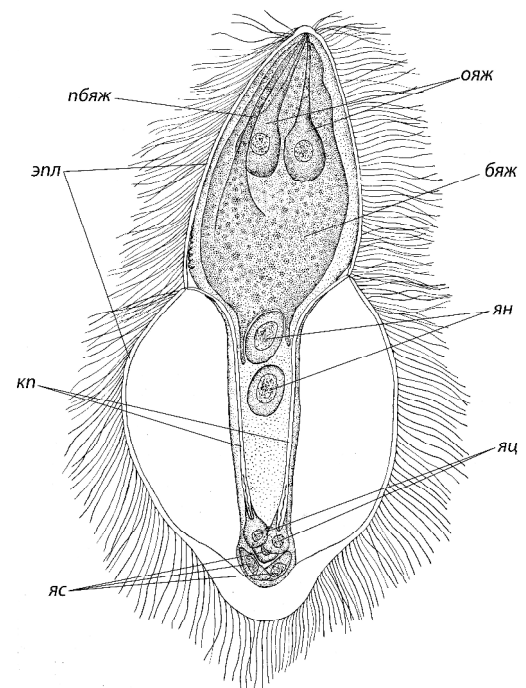


Рис. 8. Схема мирация, сбрасывающего задние эпителиальные пластинки. Подписи, как на рис. 5.

более зернистым. При сокращении тела мирацидия гранулы секрета свободно перемещаются по железе НФН.

На одном мирацидии удалось наблюдать начальные этапы сбрасывания эпителиальных пластинок (рис. 8). Мирацидий, находясь в состоянии относительного покоя, внезапно начинает интенсивно сокращаться в продольном направлении. В результате сокращений гиподерма мирацидия отслаивается от заднего ряда эпителиальных пластинок, сохраняя контакт в самой задней части туловища. На заднем конце обнаруживается бульбовидное расширение. Именно в этом расширении располагаются соматические клетки и циртоциты. Положение недифференцированных зачатковых клеток непостоянно, меняется при сокращении мускулатуры мирацидия. Личинка, продолжая периодически сокращаться, иногда производит вибрирующие движения заднего участка тела. Секрет железы неясного функционального назначения становится наиболее зернистым, концентрируясь в передней части мирацидия. На этом этапе гранулы секрета железы НФН спонтанно и быстро выводятся по протоку.

#### **Материнская спороциста**

Материнская спороциста *C. lingua* на второй день заражения невелика (рис. 9). Она локализуется интраэпителиально в стенке кишки *Hydrobia*, оказываясь окруженной внеклеточным матриксом моллюска. Клетки материнской спороцисты на этой стадии лежат очень плотно, в силу чего весьма затруднительно делать выводы об их природе. Тем не менее, на препарате среза через спороцисту отчетливо заметно, что ядра ее клеток дифференцированы. Некоторые из них уплощены; как правило, занимают пристеночное положение, но встречаются и в центральной части туловища материнской спороцисты. Это ядра соматических клеток. Судя по всему, уже на стадии двухдневной спороцисты, в ней присутствуют ранние эмбрионы – приступившие к делению генеративные клетки. Некоторые ядра эмбрионов характеризуются наличием ядрышка и диспергированного хроматина. Другие ядра – более светлые. Вероятно, клетки эмбрионов находятся на разных этапах клеточного цикла. Также на срезе хорошо заметны пикнотические тельца и некоторые светлые структуры неясной природы. Последние, предположительно, также, как и пикнотические тельца, являются результатом дегенерации клеток материнской спороцисты.

К сожалению, многократные попытки проследить дальнейшее развитие спороцисты *C. lingua* не увенчались успехом.



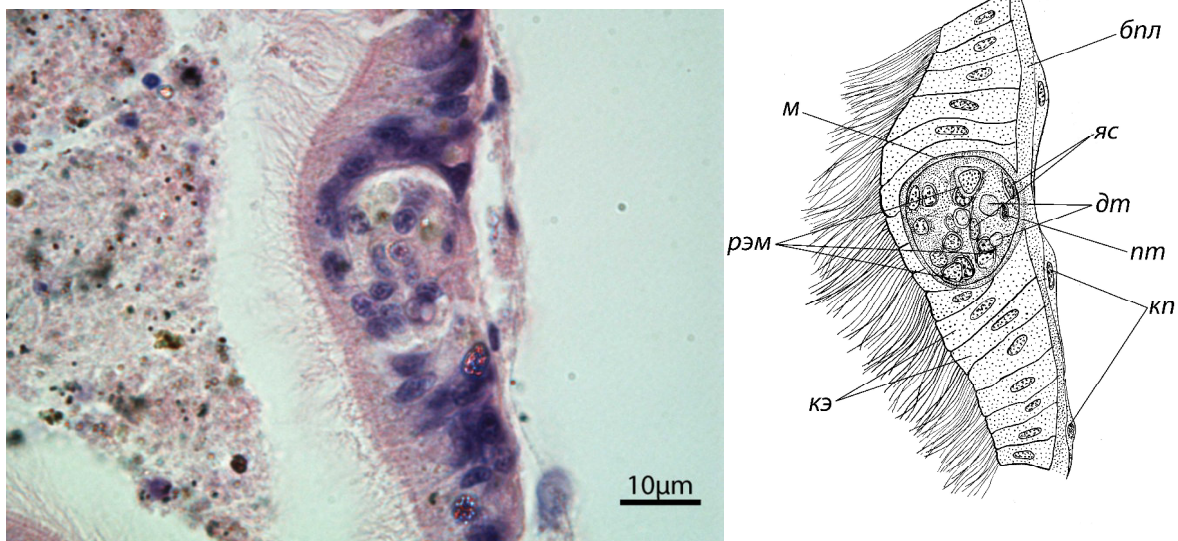


Рис. 9. Материнская спороциста *Cryptocotyle lingua*. Слева: фотография среза. Справа: схема среза: бпл – базальная пластинка, дт – дегенерационные тельца, кл – клетки перитонеума, кэ – клетки эндотелия, м – внеклеточный матрикс моллюска, пт – пикнотическое тельце, рэм – ранние эмбрионы, яс – ядра соматических клеток

### Редия

Существенных различий между редиями *Metorchis* sp. и *C. lingua* фактически нет. Редии малоподвижны, лишены локомоторных выростов. При вскрытии моллюска обычно оказываются дугообразно изогнутыми.

Различными оказались сроки эмиссии церкарий. Редии *C. lingua* продолжали весьма активно отрождать церкарий в зимнее время. Для редий *Metorchis* sp., судя по всему, в этом отношении характерна сезонная динамика. Эмиссии во втором случае перестали наблюдаться к середине ноября. В моллюсках *Bithynia* sp., вскрытых в конце марта, обнаруживалось множество редий, содержащих эмбрионы следующего поколения редий. Также наблюдалось большое число молодых редий.

Характерной особенностью редий Heterophyata является сильно редуцированный кишечник. Тем не менее, такой кишечник все же подразделен на отелы (рис. 10). Имеется короткий пищевод и мешковидная средняя кишка, стенка которой представлена сильно уплощенными клетками. Если взглянуть на молодых редий (рис. 11), то кишку в этом случае редуцированной назвать затруднительно. Средняя кишка молодых редий занимает большую часть тела и активно функционирует, о чем может говорить наличие в ее просвете многочисленных элементов гемолимфы моллюска.

Ротовое отверстие редий открывается терминально. Префаринкс очень слабо выражен. Глотка редии весьма обширная. У *Metorchis* sp. и *C. lingua* глотки различаются по форме. Глотка окружена сильно развитой на переднем конце «паренхимой». Некоторые ядра паренхимных клеток характеризуются более светлой цитоплазмой и выраженным ядрышком. Вероятно, это ядра железистых клеток.

На уровне глотки располагается канал родильной поры, структура которого нуждается в дополнительных исследованиях.

Редия *C. lingua* характеризуется герминальной массой, погруженной в паренхиму заднего конца тела (рис. 12). Такая герминальная масса поляризована. В самых задних ее участках расположены недифференцированные клетки. Кпереди от них находятся генеративные клетки разной степени зрелости. Самые зрелые генеративные клетки лежат ближе к переднему концу. В пределах герминальной массы также наблюдаются эмбрионы – приступившие к дроблению генеративные клетки. Шизоцель редий заполнен зародышевыми шарами, расположенными по градиенту зрелости.

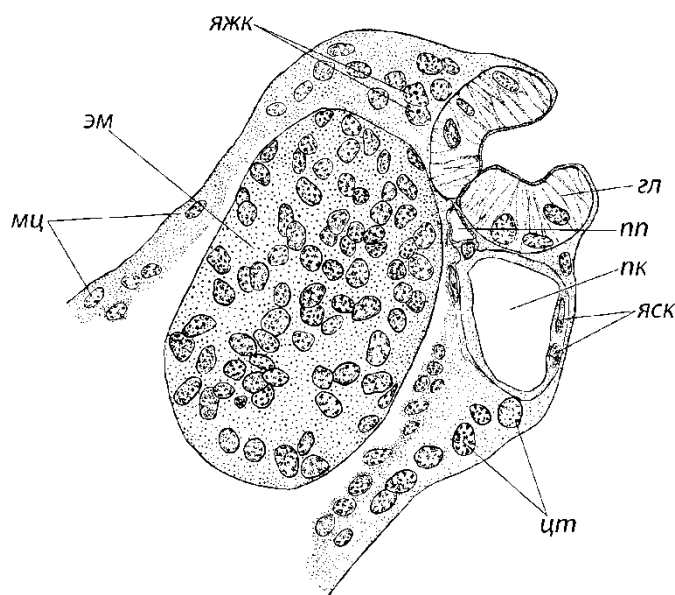
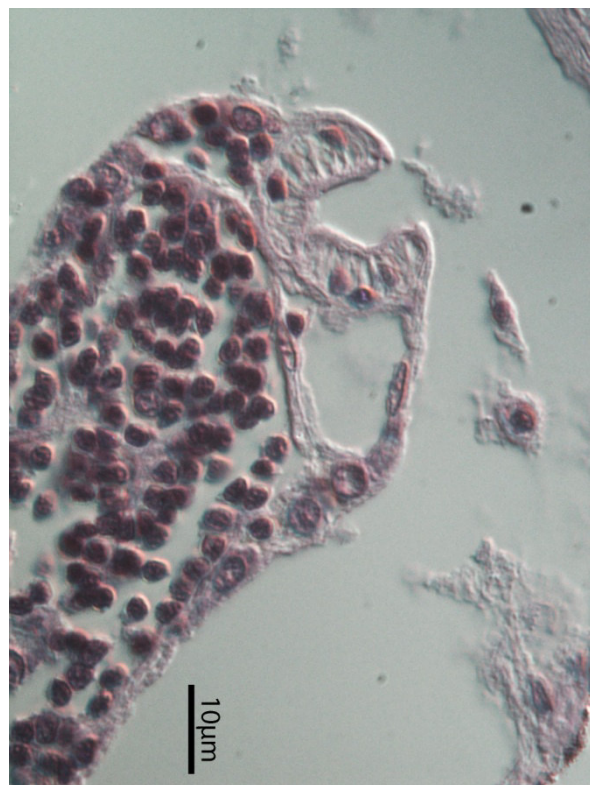


Рис. 10. Передний конец редии *C. lingua*. Сверху: фотография среза. Снизу: схема среза: гл – глотка, мц – миоцитоны, пк – просвет кишки, пп – просвет пищевода, цт – цитоны тегумента, эм – эмбрион церкарии, яск – ядра клеток стенки кишки.

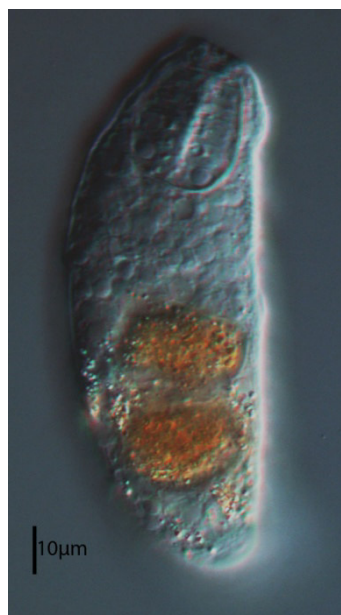


Рис. 11. Молодая редия *Metorchis* sp.



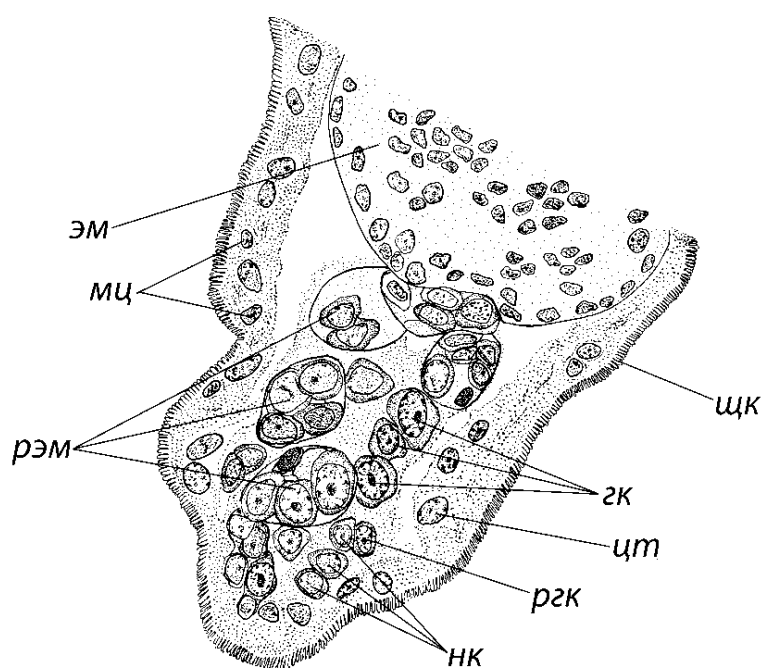
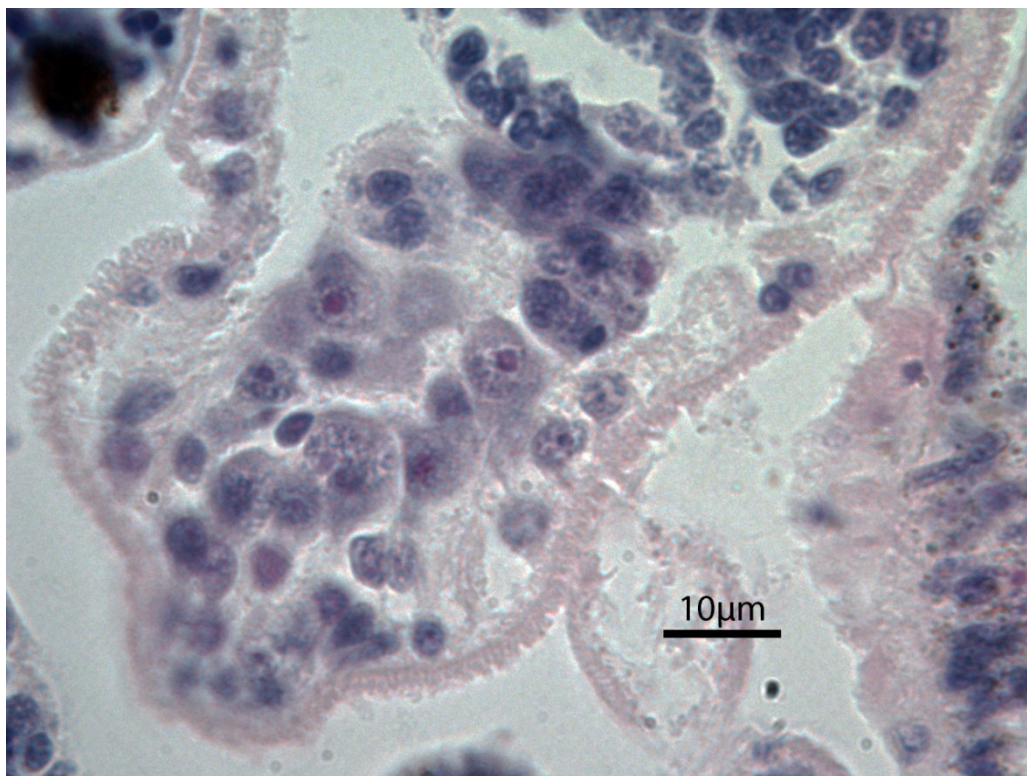


Рис. 12. Задний конец речки *C. lingua* (герминальная масса). Сверху: фотография среза. Снизу: схема среза: гк – генеративные клетки, мц – миоциты, нк – недифференцированные клетки, ргк – ранние генеративные клетки, рэм – ранние эмбрионы, цт – цитоны тегумента, щк – щеточная кайма тегумента, эм – эмбрион.

## • ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на сложную историю группы Heterophyata, ее монофилия сейчас ни у кого не вызывает сомнений. В первую очередь это, пожалуй, связано с тем, что церкарии гетерофиат поразительно схожи. Наличие плавниковой складки хвоста, отсутствие ацетабулюма, структура пенетрационного аппарата, степень развитости полового зачатка и зачатка пищеварительной системы – признаки, которые крайне слабо варьируют у представителей этого таксона. С другой стороны, у марит Heterophyata признаки могут варьировать в широчайших пределах. Объединяет половозрелых гетерофиат, в первую очередь, отсутствие бурсы цирруса. Копулятивную функцию, как правило, выполняет сложный аппарат, включающий разнообразные структуры. В большей части по признакам этого аппарата и построена современная система гетерофиат.

### Церкария

Попытки некоторых авторов разбить этот комплекс видов на две группы – Pleurolophocerca и Parapleurolophocerca – вряд ли можно считать хоть сколько-нибудь убедительными. Сьюэлл (Sewell, 1922), в чьей работе впервые появились эти названия, проводил границу между ними по двум признакам. Во-первых, наличие/отсутствие брюшной присоски – разделение, согласованное с системой Люэ: Pleurolophocerca – Monostome cercariae, Parapleurolophocerca – Distome cercariae. Во-вторых, ориентация плавниковой мембраны. Судя по всему, брюшная присоска у гетерофиатных личинок действительно может быть выражена в разной степени. По данным Ф.Г. Рис (Rees, 1974) клетки зачатка брюшной присоски, находясь под генитальным зачатком, сложным образом сочетаются с клетками последнего. Эта проблема, отмеченная Рис, не решена до сих пор. Так или иначе, о наличии у церкарий гетерофиат полноценной брюшной присоски, как таковой, скажем, у церкарий эхиностоматид, речи идти не может. Всегда говорят о ее зачатке. Некоторые пытались привязать наличие «брюшной присоски» к признакам, определяющим семейственную принадлежность. Получалось, что церкарии семейства Opisthorchiidae обладают брюшной присоской. Если взглянуть на церкарию *Opisthorchis*, то легко заметить, что зачаток брюшной присоски на самом деле весьма развит по сравнению с таковым у остальных. Однако у церкарий рода *Metorchis* (Opisthorchiidae) он представлен небольшой группой слабо дифференцированных клеток – такую же картину можно увидеть у многих представителей семейства Heterophyidae.

Что касается вопроса об ориентации плавниковой складки, то неясно, насколько среди гетерофиат распространена латеральная ориентация (случай Parapleurolophocerca). Судя по

описаниям, такая картина характерна для небольшого числа представителей. Помимо редкости такого явления, остается нерешенным вопрос о том, не может ли латеральная ориентация быть артефактом, как отмечает в своей работе Хсю (Hsu, 1951). Действительно, под покровным стеклом плавниковая складка, будучи весьма тонкой, обычно оказывается скрученной и сморщенной. Это обстоятельство приводило некоторых авторов к неправильным выводам о наличии «волосков» на поверхности хвоста личинки. Вероятно, вариант, при котором вся плавниковая мембрана оказывается латерально ориентирована (рис. 13, 3), описывается в литературе ошибочно, то есть здесь имеет место вышеотмеченное скручивание. Судя по всему, латеральная складка проксимального участка хвоста наряду с дорсо-вентральной дистального участка возможна у некоторых представителей (рис. 13, 2). Однако из-за неполноты имеющихся в нашем распоряжении данных использовать этот признак для решения таксономических проблем в настоящее время не представляется возможным. Окончательно решило бы эту неясность применение методики сканирующей электронной микроскопии.

Складку можно рассматривать как адаптацию к планктонному образу жизни. Такая адаптация часто встречается у самых разных групп беспозвоночных. С другой стороны, то, что плавник развит практически у всех гетерофиатных церкарий, скорее всего, связано не столько с планктонным образом жизни, сколько с особенностями поведения церкарий. Периодический характер перемещения личинок гетерофиат в толще воды (активная фаза – фаза покоя) нацелен на максимизацию вероятности встречи со вторым промежуточным хозяином. Однако такая стратегия поиска была бы крайне невыгодна, если бы не было чего-либо, препятствующего обратному погружению после фазы активного движения. Таким образом, плавниковая мембрана является своеобразным приспособлением для минимизации затрат энергии. Во многом именно благодаря этому церкарии гетерофиат являются своего рода долгожителями среди всех прочих церкарий трематод.

В целом, можно говорить, что дорсо-вентральная плавниковая складка хвоста (рис. 13, 1) не является редкостью среди трематод. Она встречается и у фуркоцеркарий, и у

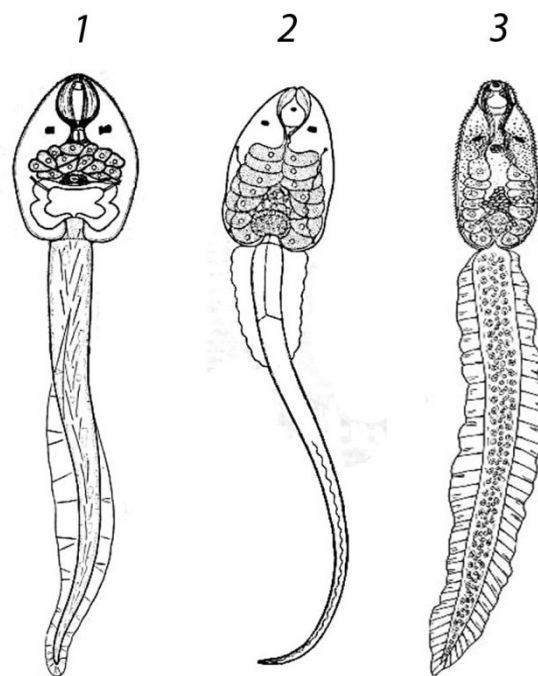


Рис. 13. Церкарии Heterophyata. 1 - *Cercaria constrictovesica* (по: Cable&Wheeler, 1939), 2 – *Haplorchis pumilo* (по: Hsu, 1951), 3 - *Monorchotrema taichui* (по: Faust&Nishigori, 1926).



цистоцеркатных церкарий. Встречается наличие плавниковой складки и у некоторых представителей группы Xiphidiata. Во всех перечисленных группах она возникает «спонтанно» и, в большинстве случаев, усиливает пропеллирующий эффект при постоянной работе хвоста. Но если в других группах наличие плавниковой мембраны свойственно представителям таксоном невысокого ранга (вид, род, в крайнем случае, семейство), то у гетерофиат, это признак, объединяющий всю группу. Лишь вторично, у форм, перешедших к пассивному попаданию паразита во второго промежуточного хозяина (магнацеркатные и зигоцеркатные формы) можно наблюдать утрату плавниковой мембраны.

Стратегия поиска второго промежуточного хозяина наложила свой отпечаток не только на морфологические особенности хвоста. В любом случае, когда мы говорим о поиске чего-либо, необходимо обращать внимание на сенсорный аппарат. В силу того, что для церкарий гетерофиат явственным образом характерен фототаксис, на дорсальной стороне тела личинки всегда имеется пара глаз. Если взглянуть на другие группы трематод, то такой признак, как наличие глаз, можно встретить у очень многих представителей. Однако этот признак всегда может варьировать в пределах одного семейства (i.e. Schistosomatidae). В случае гетерофиат наличие пары глаз характерно для всех без исключения представителей.

Если попытаться найти признак, который в большей степени изменчив у церкарий гетерофиат, то внимание исследователя наверняка привлечет разнообразие экскреторных формул. Некоторые авторы отмечают, что пятичленный тип ( $2[(n+n)+(n+n+n)]$ ) характерен для представителей семейства Opisthorchiidae; четырехчленный ( $2[(n+n)+(n+n)]$ ) – для Cryptogonimidae. Анализ литературы показал, что такое разделение вряд ли соответствует действительности. По имеющимся сведениям, выделительную систему церкарий описторхий действительно описывают пятичленной формулой. Тем не менее, такой вариант, судя по всему, характерен не только для этого семейства. Он встречается у церкарий *Metagonimus* sp. и у *Heterophyes* sp. – представителей семейства Heterophyidae. Что касается криптогонимид, то их экскреторная формула может быть представлена и четырехчленным вариантом, и шестичленным. Так или иначе, вряд ли сегодня можно делать какие-либо выводы о распределении вариантов выделительной системы по семействам гетерофиат. Вопрос осложнен тем обстоятельством, что данные имеются далеко не по всем представителям группы. Имеющиеся же сведения могут быть неточны в силу того, что церкарии гетерофиат трудно отличимы друг от друга. Проблема заключается еще и в том, что сама морфология личинок, для которых часто характерно мощное развитие цистогенного аппарата, очень затрудняет детальное исследование выделительной системы.

Сложно охарактеризовать и железистый аппарат церкарий Heterophyata. Меньше вопросов возникает в отношении пенетрационного комплекса желез. У подавляющего большинства представителей обычно описывают две группы по семь желез. Другое дело,

что расположены железы проникновения могут быть по-разному. В большинстве случаев железы собраны в одну или две компактные группы, лежащие кпереди от полового зачатка. Также встречаются представители, у которых железы проникновения располагаются в теле двумя продольными рядами по бокам от полового зачатка. Так или иначе, число этих желез на удивление стабильно в пределах группы. У других групп трематод этот признак (если имеется) намного более вариабелен. Скажем, у ксифидиатных церкарий железы проникновения могут присутствовать в самом разном количестве.

Более неясна ситуация с мукоидными железами. Описания таковых редки, если не сказать единичны. Традиционно считается, что число мукоидных желез церкарий гетерофиат соответствует таковому у представителей плагиорхиатной ветки. У ксифидиатных личинок имеется четыре пары дорсально расположенных мукоидных желез. К переднему органу часто приурочен резервуар секрета этих желез – виргула, которая может быть развита в разной степени. Данные по мукоидным железам гетерофиат частично противоречат этой картине. В нескольких работах описывается пять пар дорсально расположенных желез, демонстрирующих метакромазию при окрашивании толуидиновым синим. На схеме Ю. С. Сохранской по *C. lingua* отмечены четыре пары мукоидных желез с ядрами и пара безъядерных образований, располагающихся непосредственно за передним органом личинки. То же самое описывает и Ито (Ito, 1964) у церкарий *Centrocestus armatus*. По данным С.В. Щенкова, церкарии *Metorchis* sp. обладают четырьмя парами мукоидных желез на дорсальной стороне, а к апикальному органу приурочена слабо развитая виргула. Весьма вероятно, что описываемая Ю. С. Сохранской, так называемая, «безъядерная железа» представляет собой сильно вытянутый отросток первой пары мукоидных желез, направленный в сторону переднего органа. Решению этого вопроса способствовало бы накопление данных по другим представителям группы.

### **Марита.**

Мариты гетерофиат, будучи традиционно самой изученной стадией жизненного цикла, бесспорно, характеризуются значительно большими вариациями признаков, нежели другие стадии. Правы исследователи, считающие, что этой фазе нужно уделять особое внимание при попытках построить систему, отражающую филогению группы (но не правы те, которые стремятся учитывать исключительно ее признаки). Однако внимание таких исследователей привлекали скорее не признаки мариты, а единственный ее признак – строение аппарата оплодотворения.

Если взглянуть на то, как авторы проводят границы между семействами, то мы увидим следующую картину. Семейство Heterophyidae обособляется от остальных по наличию вентро-генитального или генитального синуса. Opisthorchiidae никогда не имеют гонотилия, а

у Cryptogonimidae гонотиль может быть как выражен, так и отсутствовать. При разделении последних двух семейств также используется такой признак, как положение семенников, и учитывается окончательный хозяин. Сразу следует отметить, что тип окончательного хозяина вряд ли можно использовать при филогенетических построениях относительно трематод. Грубо говоря, на каждую географическую зону найдется свой окончательный хозяин среди позвоночных. Этот признак может быть применим при филогеографических исследованиях, где важно проследить возможные варианты трансмиссии паразита по карте мира. Намного более грубая ошибка, судя по всему, таится в самом корне этой системы. Дело в том, что терминология, используемая в данном построении во многом согласована с таковой авторов, описывавших половозрелые особи гетерофиат. При этом очень часто совершенно разным структурам приписывают одни и те же названия. Речь, в первую очередь, идет о гонотиле.

Авторство термина «гонотиль» принадлежит Витенбергу (Witenberg, 1929), который под этим словом подразумевал мускулистый вырост, расположенный на дне генитального или вентрогенитального атриума. Забегая вперед, следует сказать, что Витенберг имел дело только с представителями нынешнего семейства Heterophyidae. В дальнейшем многие авторы называли гонотилем любой мышечный вырост, связанный с аппаратом оплодотворения. Получается, что Heterophyidae – единственными представителями, обладающие вентрогенитальным или генитальным синусом; следовательно, единственные, которые по определению способны иметь гонотиль. Тем не менее, наличие/отсутствие такового используется при разделении остальных гетерофиат на Cryptogonimidae и Opisthorchiidae.

Справедливо, что представители, которых относят к таксону Opisthorchiidae, обладают наименее модифицированным по сравнению с остальными аппаратом оплодотворения. Общий гермафродитный проток открывается генитальной порой, которая обычно расположена кпереди от развитой брюшной присоски. Криптогонимиды характеризуются большим разнообразием аппаратов оплодотворения. Преимущественно именно в этом семействе сгруппировались представители, имеющие (или не имеющие) «гонотили». Именно эти «гонотили» неясным образом соотносятся со структурами, которые описывал Витенберг. Под этим названием у Cryptogonimidae описываются различные структуры. В большинстве случаев говорится о присоско-подобных структурах. Анатомия этих структур в деталях не описана. Не очень понятно, почему эти структуры трактуются именно как гонотили, а не «вторые брюшные присоски». Две брюшные присоски встречаются у трематод. Например, у некоторых Microphallidae, наряду с настоящим ацетабулюмом, описано еще одно присосковидное образование, связанное с половой системой.

В силу того, что нельзя с уверенностью называть выросты, связанные с аппаратом оплодотворения Cryptogonimidae (а также некоторых Heterophyidae), гонотилиями, в данной работе предлагается новый термин – «псевдогонотили».

У некоторых представителей описано множество псевдогонотилей, располагающихся между брюшной и ротовой присосками (*Oligigonotylus* sp.). Псевдогонотиль может быть представлен мускулистой папиллой (*Allacanthochasmus* sp.) или немускулистым выростом (*Neochasmus* sp.).

В первую очередь, определение всех перечисленных структур как гонотилей невозможно в силу того, что у их обладателей все же нет выраженного вентрогенитального синуса. С последним в литературе тоже имеются некоторые неясности. При полном погружении вентральной поверхности в области брюшной присоски или генитальной поры вглубь тела вопросов о наличии синуса не возникает (такую картину мы увидим у многих представителей семейства Heterophyidae). Для перечисленных же Cryptogonimidae, хоть и говорят о синусе, однако такого явного погружения, судя по всему, не происходит. Здесь зона брюшной присоски, будучи подвижной, часто оказывается ввернута вглубь тела вместе с генитальной порой. Причем псевдогонотили могут оказываться вне этого впячивания. Вероятно, в отношении некоторых криптогонимид все же можно использовать термин гонотиль. Так, у представителей рода *Textrema* хорошо выражен вентрогенитальный синус, на передней стенке которого имеется мускулистый вырост.

Строго говоря, неясно, какие признаки определяют семейство Cryptogonimidae. Вот что пишут Крибб и Миллер (Miller, Cribb, 2008) в Keys to the Trematoda Volume 3: «Криптогонимиды не отличимы явственно по какому-либо одному признаку, но отличимы по комбинации признаков.». Далее в тексте идет перечисление признаков, большинство из которых характерны даже не столько для Heterophyata, сколько для трематод в целом. Видимо, в эту группу попали те гетерофиаты, которых не удалось включить ни в Opisthorchiidae, ни в Heterophyidae.

Мариты семейства Heterophyidae характеризуются аппаратом оплодотворения, который обычно погружен в истинный генитальный (или вентрогенитальный) синус. На дне синуса развиваются мускулистые выросты – гонотили. Здесь возникает меньше сомнений в корректности терминологии (см. выше). Однако детали строения гонотилиа известны лишь для одного представителя – *C. lingua*.

Обобщая вышесказанное по маритам гетерофиат, можно отметить, что данные по копулятивному аппарату крайне запутаны. Тем не менее именно по его особенностям построена система Heterophyata. Природа многих структур, входящих в аппарат оплодотворения, неясна, хотя некоторые авторы с уверенностью придают им имеющиеся в литературе названия. Возможно, вариант строения, наблюдаемый у представителей

Opisthorchiidae является базовым для этой группы. Однако разнообразие копулятивных аппаратов Heterophyidae и Cryptogonimidae может говорить о том, что модификации базового состояния шли самыми разными путями. Нисколько не удивительно то, что в работе Тэнхам наметились черты парафилии семейств Opisthorchiidae и Heterophyidae. Если учесть, что в этой работе использовалось лишь три последовательности ITS и три 18S rDNA по Opisthorchiidae, то включение в анализ большего количества сиквенсов может дать самые неожиданные (и в то же время ожидаемые) результаты.

Так или иначе, разделение Heterophyata на три семейства даже на основании данных по копулятивному аппарату видится крайне сомнительным. Данный вопрос может быть решен построением кратчайшей филодендрограммы по матрице, включающей большое число признаков не только по маритам, но и по другим стадиям жизненного цикла. Детали строения аппарата оплодотворения, безусловно, должны быть включены в эту матрицу, но природа структур, составляющих этот аппарат должна быть предварительно уточнена.

Нельзя считать, что утрата бурсы цирруса является уникальной чертой, характерной лишь для Heterophyata. Большинство представителей Strigeata «отказались» от такого аппарата оплодотворения. Также тенденция к утрате сумки цирруса наблюдается в надсемействе Microphalloidea. Однако о полной утрате в последнем случае, судя по всему, говорить все же нельзя.

Традиционно считалось, что гетерофиат можно рассматривать как группу, находящуюся в той или иной степени родства с представителями плагиорхиатной ветви. Это родство определялось в большей степени двумя обстоятельствами. Во-первых, считалось, что число мукоидных желез на дорсальной стороне тела церкарий одинаково у представителей обеих групп. Во-вторых, предполагалось идентичное строение мирацидия гетерофиат и плагиорхиат (Galaktionov et Dobrovolskij, 2003). Касательно первого, вопрос, связанный с мукоидными железами не решен в силу неясной природы структур, располагающихся около переднего органа церкарий гетерофиат (см. выше). Второму обстоятельству посвящен следующий раздел текста.

### **Мирацидий.**

Мирацидий гетерофиат был описан в нескольких работах. Однако единого мнения о его строении не существовало. В первую очередь, разногласия связаны с железистым аппаратом личинки. Работы по гетерофиатным мирацидиям можно разбить на три категории. К первой относятся работы Вышкварцевой (1969) по *M. intermedius* и Посохова (1974) по *C. sinensis*. Именно эти описания породили заблуждения, связанные с идентичностью личинок Heterophyata и Plagiorchiata. Авторы в этих случаях ошибочно указывали на наличие двух

двухъядерных желез проникновения. Такая картина характерна для мирацидиев *Telorchis assula* (Telorchidae) и целого ряда других видов, мирацидии которых были описаны А. А. Добровольским (Dobrovolskij, 1965; Добровольский и др., 1983), *Haplometrana intestinalis* (Plagiorchiidae), *Glypthelmins quieta* (Plagiorchiidae) (Schell, 1961, 1962) и некоторых других представителей плагиорхиатной ветки. Вероятно, эта ошибка была индуцирована работами А.А. Добровольского, который утверждал, что сходство строения мирацидиев отражает глубокие филогенетические связи между крупными таксономическими ветвями трематод (Dobrovolskij, 1965; Добровольский и др., 1983).

Ко второй категории можно отнести описание Шамима и Мадхави (Shameem and Madhavi, 1988). Трудно оценить, с чем именно имели дело авторы; неясно, какие методики ими использовались. Однако рисунок мирацидия *H. mehrai*, приводимый в их работе, больше напоминает личинок стригеат и фасциолят. Только у представителей этих двух групп и примыкающих к ним таксонов встречается апикальная железа, представленная четырехъядерным симпластом. То есть, схема, приводимая в этой работе, скорее соответствует некому классическому представлению о строении мирацидия и ни в коем случае не отражает реальную картину. Справедливости ради, стоит отметить, что две одноядерных железы проникновения оказались верно угаданными, но их расположение у невылупившегося мирацидия вызывает сомнения.

В третью категорию попадают авторы первой половины двадцатого столетия. В первую очередь, здесь выделяется работа Ханса Фогеля (Vogel, 1934). Особенно, если учесть, что Фогель очень аккуратен в трактовках, можно говорить, что его схема по *Opisthorchis* практически полностью совпадает со схемой, представленной в данной работе по *C. lingua*. То же самое можно отчасти сказать и про работу Фауста (Faust et al., 1929), посвященную *Clonorchis sinensis*. Немецким исследователям, конечно, удалось разглядеть далеко не все элементы, но общая топология клеток мирацидия, расположение ядер оказались в той или иной степени верными. Сомнения вызывает, пожалуй, лишь то обстоятельство, что железа неясного функционального назначения на схемах обоих авторов содержит ядро. Клетка, расположенная на рисунках Фогеля под апикально расположенной железой проникновения, скорее всего, является второй одноядерной железой.

Сравнивая полученную нами схему со схемами авторов первой половины 20-го века, можно заметить, что границы железы неясного функционального назначения никем рассмотрены не были. Видимо, некоторые ее части трактуются в этих работах как отдельные структуры. К таким структурам, скорее всего, можно отнести и «ганглий» мирацидия *Haplorchis*, отмеченный в работе Хсю (Hsu, 1951). Весьма возможно, что эта железа может быть развита в разной степени. Вплоть до того, как это выглядит на схеме

Перкинса (Perkins, 1956) по *Acetodextra amiuri*. Тем не менее, все описанные мирацидии нуждаются в дополнительных исследованиях с использованием современных методик.

Обобщая вышесказанное, можно отметить, что в большинстве случаев имеющиеся схемы по гетерофиатному мирацидию оказались неточными. Наиболее близкими к действительности явились описания авторов первой половины 20-го века. Так или иначе, сейчас можно с определенной долей уверенности полагать, что железистый аппарат гетерофиатных мирацидиев представлен тремя клетками. Две из них принято называть пенетрационными, одна железа - неясного функционального назначения.

Намного более трудно сравнивать остальные (не железистые) клетки мирацидия *C. lingua* со сходными структурами, описанными у других личинок. Дело в том, что, опираясь на светооптические исследования, мы практически ничего не можем с точностью сказать об их природе. С уверенностью мы можем вести речь лишь о том, что две из этих клеток являются циртоцитами. Пламенные клетки отмечены далеко не на всех схемах гетерофиатных мирацидиев. На тех, где они все же имеются, их положение оказывается самым разным. Однако ни в одном случае не говорится о заднем положении – о картине, которую удалось пронаблюдать у *C. lingua*. Не исключено, что возможны вариации в положении циртоцитов. Возможно что по этому признаку среди геретрофиат существуют различия. В пределах Plagiorchiata циртоциты отмечены только у представителей нескольких семейств: Plagiorchiidae, Telorchiidae и некоторых других. А вот у представителей сем Microphallidae никаких признаков мерцательных клеток обнаружить не удалось (Добровольский и др., 1983).

Все авторы, кроме Фогеля, Фауста и Перкинса (Faust et al., 1929; Vogel, 1934; Perkins, 1956), указывают на наличие в заднем конце тела личинки двух или более генеративных клеток. В случае работ Вышкварцевой (1969) и Посохова (1974), есть подозрения, что такая картина вызвана данными по плагиорхиатам (см. выше). У мирацидиев Plagiorchiata действительно часто встречается ситуация, при которой в заднем конце имеется две крупные генеративные клетки. У личинки *C. lingua* в заднем конце тела имеется два ядра, которые отличаются по форме и по размерам от других, однако нет уверенности, что их можно считать генеративными. Последние могут быть определены по наличию ядрышка. В ядрах, которые обнаруживаются у *Cryptocotyle* ядрышек наблюдать не удалось. В целом, вариации в числе генеративных клеток возможны. У некоторых плагиорхиид такие вариации наблюдаются в пределах одного вида (Добровольский и др., 1983). Однако же вопрос о генеративных клетках осложнен тем обстоятельством, что этому названию нет строгого цитоморфологического определения. Возможно, разные авторы под этим словом подразумевают разные типы клеток.

В связи с тем, что мирации трематод, тем более пассивно попадающие в моллюска, очень плохо изучены, материала для сравнения, мягко говоря, немного. Принято считать, что исходно трематоды обладали активно перемещающейся в толще воды личинкой. Такие мирации сохранились во многих семействах сосальщиков. Представители других семейств перешли к стратегии, по которой мираций пассивно попадает в моллюска. Часто говорят, что такой переход сопровождался «упрощением» строения мирация. Это «упрощение» связано с сильной деградацией нервной системы – сенсорного аппарата, с сокращением числа ресничных пластинок и общей миниатюризацией тела личинки (Galaktionov, Dobrovolskij, 2003).

Пассивно попадающий в моллюска мираций встречается у многих Xiphidiata (sensu Olson et al., 2003). Не встречается таковой у большинства Gorgoderoidea и всех Allocreadioidea. Судя по всему, мираций Plagiorchioidea никогда не покидает оболочки яйца во внешней среде. Если взглянуть на описанных личинок Plagiorchioidea, то между ними можно найти много общего. По имеющимся в литературе данным, для всех них характерно наличие двух двуядерных желез проникновения. А вот так называемый комплекс желез вылупления являет вариации у этих личинок. Возможна ситуация, при которой в передней части тела имеется две одинаково развитых железы вылупления (*Haplometrana intestinalis* по: Schell, 1961). У *Haematoloechus coloradensis* (Plagiorchiidae) одна из желез достигает большего развития (O. Dronen, 1975). Наконец, у *Telorchis assula* (Telorchidae) имеется единственная весьма развитая железа вылупления (Добровольский и др., 1983). Проблемой вылупления личинок занимались многие авторы 20-го столетия, однако к каким-либо однозначным выводам эти исследования не привели.

Весьма отличен от других плагиорхиат мираций Microphalloidea. Здесь имеется три железистых образования в передней части тела. Две одноядерные железы и одна безъядерная структура (Добровольский и др., 1983). Можно говорить, что личинка микрофаллид удивительным образом оказалась наиболее похожа на мирациев гетерофиат. Однако представители Microphalloidea традиционно считаются наиболее специализированной группой Plagiorchiata. В связи с этим, вряд ли сейчас можно хоть с какой-либо долей уверенности говорить о том, что внешнее сходство мирациев может свидетельствовать о филогенетических связях между гимнофаллидами (Microphalloidea) и гетерофиатами, как это предполагал в свое время Морозов (1955). Вполне вероятно, что сходство в строении железистого аппарата личинок вторично, то есть такая картина могла появиться независимо на разных ветвях древа трематод.



### Материнская спороциста

Немногочисленные описания материнских спороцист гетерофиат, в большинстве случаев, сводятся к краткой характеристике формы партениты, сроков ее развития и способа отрождения материнских редий. Даже по этим трем пунктам точек соприкосновения между разными работами весьма мало. Пожалуй, имеет смысл остановиться на двух работах, где материнская спороциста была описана подробнее всего.

Необычным видится описание материнской спороцисты *Stellantchasmus falcatus* (Каогу Noda, 1959). С одной стороны, Нода, отмечая наличие компартментов с развивающимися эмбрионами, предлагает схему, которая встречается у некоторых представителей Plagiorchiata. Так, материнская спороциста *Haplometra cylindracea* (Добровольский и др., 1983) являет собой мешок, разделенный элементами сомы на множество отсеков. В пределах этих отсеков развиваются эмбрионы дочерних спороцист. С другой стороны, не вполне ясно, что автор подразумевает под отделением «дочерних» спороцист от материнской. Имеет ли здесь место почкование? Или некие эмбрионы покидают тело материнской спороцисты? Во всяком случае, весьма сомнительным видится предположение, что тонкая мембрана, окружающая эмбрионы «дочерних» спороцист становится их же внутренней стенкой. Стоит отметить, что ситуация, при которой какие-либо оболочки вокруг развивающихся эмбрионов неверно трактуются, очень нередка в трематодологической литературе. Зародышевая мембрана, стенка компартмента, стенка самой партениты, – как минимум три оболочки могут присутствовать вокруг развивающегося эмбриона. Почти наверняка есть и четвертый слой - соединительно-тканная мантия. Мантия практически всегда образуется при развитии материнских спороцист. Возможно, именно её Нода и называл внешней стенкой «дочерних» спороцист. Однако, как именно организована материнская спороциста *S. falcatus* все же не вполне ясно.

Ничего общего с описанием Нода не имеет описание Крибба (Cribb, 1986). Материнская спороциста *Stemmatostoma pearsoni* характеризуется хорошо выраженной полостью, в которой эмбрионы располагаются по градиенту зрелости.

Сравнивая ранние этапы развития материнской спороцисты *C. lingua* с таковыми плагиорхиат, можно отметить, что, в общих чертах, план строения идентичен. С другой стороны, по литературным данным столь раннего начала развития эмбрионов дочернего поколения у Plagiorchiata никогда не наблюдается. Несмотря на существенные вариации в сроках развития материнской спороцисты у плагиорхиат, дробление всегда смещено на более поздние стадии. На ранних же этапах активно идут деления недифференцированных клеток.

### Редия

Несмотря на то, что в трематодологической литературе этой стадии уделяется не самое большое внимание, можно с определенной долей уверенности полагать, что редии Heterophyata характеризуются единым планом строения. По крайней мере, общая морфология, а именно степень редукции кишки, отсутствие локомоторных выростов и т.д. от работы к работе описываются единообразно. Судя по недавним исследованиям Д.Ю. Крупенко, практически нет различий и в строении мышечного аппарата редий.

Различия могут касаться, в первую очередь, динамики размножения партенит. Во-первых, интересен и, безусловно, требует дополнительных исследований вопрос о сезонной динамике. Нет ясности, как сезонность связана с тем, является ли первый промежуточный хозяин морским или пресноводным обитателем. Также, относительно динамики, вероятны вариации, связанные с различиями общего числа эмбрионов, развивающихся в отдельно взятой редии.

Исследования нервной системы, выделительной системы, а также ультраструктурных особенностей клеток «паренхимы» могли бы внести ясность в вопрос о том, является ли эта стадия действительно столь единообразной.

### • **ВЫВОДЫ**

1. Морфология мирацидия *Cryptocotyle lingua* значительно отличается от морфологии личинок Plagiorchioidea, но особенности железистого аппарата мирацидия *C. lingua* схожи с таковыми у личинок Microphallidae.
2. Ранние этапы развития материнской спороцисты *C. lingua*, в целом, схожи с таковыми у Plagiorchiata, однако начало развития эмбрионов дочернего поколения у *Cryptocotyle* происходит раньше.
3. Редии Heterophyata отвечают единому плану строения. Различия касаются сезонной динамики размножения редий, паразитирующих в морских и пресноводных моллюсках. Редия *C. lingua* характеризуется типичной погруженной поляризованной герминальной массой.
4. Церкарии Heterophyata характеризуются высокой степенью сходства строения. Различия касаются типа плавниковой мембраны, расположения желез проникновения. Степень различия строения выделительной системы церкарий требует дополнительных исследований.
5. Система Heterophyata построена по характеристикам копулятивного аппарата марит, однако различные варианты строения последнего описываются одним термином (гонотиль). Природа структур, входящих в состав аппарата оплодотворения большинства представителей нуждается в уточнении.

## • СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беэр С.А., Герман С.М., О.Дитрих, М.Гибода. 1991. Морфофункциональные особенности ультраструктуры внешней оболочки яиц описторхид. Сообщение 1. Вылупление мирацидиев. Институт паразитологии АН Чехословакии, Коллектив авторов. стр. 18-22.
2. Вышкварцева Н.В. 1969. Морфология фаз развития сосальщика *Metorchis intermedius* (Opisthorchiidae) из баклана. Паразитология. 3(4) С. 346-353.
3. К.В. Галактионов, А.А. Добровольский, И.М. Подвязная. 2014. Эволюция морфофункциональной организации партеногенетических поколений трематод. *Зоологический журнал*, 93(3), с. 426–442.
4. Герман С.М., Бэбрис Н.К., Беэр С.А. 1986. Изучение условий выхода мирацидиев описторхиса в организме моллюсков хозяев // Тез. 4-го Всес. симпоз. по паразитам водных беспозвоночных. М.. С. 32—33.
5. Добровольский А.А., Галактионов К.В., Мухамедов Г. К., Синха Б.К., Тихомиров И.А. 1983. Партеногенетические поколения трематод. Тр. ЛОЕ. 82(4): 108 с.
6. Манафов А.А. 2010. Партениты и церкарии трематод моллюска *Melanopsis praemorsa* (L., 1758) бассейна Средней Куры в пределах Азербайджана. // Баку, Нурлар, , 260 с.
7. Морозов Ф.Н. 1952. Трематоды надсемейства Heterophyoidea Faust, 1929 // К.И. Скрыбин Трематоды животных и человека. Основы трематодологии. Т. 6. М.: Наука,. С. 153–618.
8. Морозов Ф.Н. 1955. Подотряд Heterophyata Morosov, 1955 // К.И. Скрыбин Трематоды животных и человека. Основы трематодологии. Т. 10. М.: Наука,. С. 243–248.
9. Посохов П. С. 1974. Морфология фаз развития трематоды *Clonorchis sinensis* (Cobbold, 1875) Looss, 1907, М., Мед. паразитол., т. 41, № 5, с. 548
10. Прокофьев В.В. и Галактионов К.В. 2009. Стратегии поискового поведения церкарий трематод. Труды Зоологического института РАН Том 313, № 3, с. 308–318
11. Сохранская Ю.С. 1994. Железистые аппараты церкарий некоторых видов трематод отрядов Heterophyata и Plagiorchiata. Паразитология. 28(5): 385-395.
12. Ameel DJ, Cort WW, Van der Woude A. 1950. Germinal development in the heterophyid, *Euryhelminis monorchis* Ameel, 1938. *Journal of Parasitology*. 36:427-432
13. Bouchet, P.; Rocroi, J.-P. (Ed.). 2005. Classification and nomenclator of gastropod families. *Malacologia: International Journal of Malacology*, 47(1-2). 397 pp.
14. Brooks, D.R., O’Grady, R.T., Glen, D.R., 1985. Phylogenetic analysis of the Digenea (Platyhelminthes: Cercomeria) with comments on their adaptive radiation. *Can. J. Zool.* 63: 411–443.
15. Brooks E. G. 1930. Studies on the germ-cell cycle of Trematodes. *Amer. Journ. Hyg.* 12: 299—340.

16. Burns, W. M.; Pratt, Ivan. 1953. The Life Cycle of *Metagonimoides Oregonensis* Price (Trematoda: Heterophyidae). *The Journal of Parasitology*. 39 (1): 60–69
17. Cable, R. M., and A. V. Hunninen. 1942. Studies on the life history of *Siphodera vinalwardsii* (Linton) (Trematoda: Cryptogonimidae). *Journal of Parasitology*. 28:407–422
18. Cable, R.M., 1974. Phylogeny and taxonomy of trematodes with reference to marine species. In: Vernberg, W.B., (Ed.), *Symbiosis in the Sea*, University of South Carolina Press, Charleston, SC, pp. 173–193.
19. Chapman, H.D., Wilson, R.A. 1973. The propulsion of the cercariae of *Himasthla secunda* (Nicoll) and *Cryptocotyle lingua*. *Parasitology*. 67:1-15.
20. Chapman, H.D. 1973. The functional organization and fine structure of the tail musculature of the cercariae of *Cryptocotyle lingua* and *Himasthla secunda*. *Parasitology*. 66:487-97.
21. Cribb, T.H. 1986. The Life-Cycle and Morphology of *Stemmatostoma-Pearsoni*, Gen Et Sp-Nov, With Notes on the Morphology of *Telogaster-Opisthorchis* Macfarlane (Digenea, Cryptogonimidae). *Australian Journal of Zoology*. 34: 279–304.
22. Dobrovolskij A.A. 1965. Über die Einheitlichkeit des Bauplanes von Mirazidien der Überfamilie Plagiorchioidea. *Angew. Parasitol.*, 6,3: 157-165
23. Dubois, G. 1929. *Les cercaires de la région de Neuchâtel*. Neuchâtel: Imprimerie centrale.
24. Faust E.C., Nishigori M. 1926. The life cycles of two new species of heterophyidae, parasitic in mammals and birds. *J Parasitol*;13: 91-132.
25. Faust E.C. 1917. Life history studies on Montana trematodes. 111. *Biol. Monogr.* 4:1—101.
26. Faust, E. C. 1924. Notes on larval flukes from China, II. Studies on some larval flukes from the central and south coast provinces of China. *Amer. Jour. Hyg.*, 4, 241-301.
27. Faust, E.C. 1929. *Human Helminthology*. Philadelphia. O. K. KHAW, K. E. YAO AND Y. A. CHAO 1927-Studies on *Clonorchis sinensis* (Cobbold) *Amer.J. Hyg. Monogr.* Ser. 8:1-284.
28. Galaktionov K.V., Dobrovolskij A.A. 2003. The biology and evolution of trematodes. An essay on the biology, morphology, life cycles, transmissions, and evolution of digenetic trematodes. Dordrecht, Boston, London: Kluwer acad. publ.
29. Hsu, P.K. 1951. A comparative study of the early larval stages of some heterophyid trematodes belonging to the genera *Haplorchis* and *Procerovum* (Trematoda: Heterophyidae). *Lingnan Science Journal*, v. 23, p. 235-256.
30. Ingles, L.G. 1935. Notes on the development of a heterophyid trematode. *Transactions of the American Microscopical Society* 54: 19–21.
31. Ito, J. A monograph of cercariae in Japan and adjacent territories. *Progr Med Parasitol Jap* 1964; 1:395-550.

32. Noda, K. 1959. The Larval Development of *Stellanthchasmus Falcatus* (Trematoda: Heterophyidae) in the First Intermediate Host. *Issue 442 of Technical paper*, Hawaii Agricultural Experiment Station.
33. Kobayashi, H. 1922. A review of Japanese cercariae. *Mitteil. med. Akad. Keijo*, 27 pp., 5 pi.
34. Komiya Y, Suzuki N. 1964. Progress of medical parasitology in japan. Tokyo: Meguro Parasitological Museum. 1: 553–600.
35. Krupenko, D. Y., & Dobrovolskij, A. A. 2015. Somatic musculature in trematode hermaphroditic generation. *BMC Evolutionary Biology*, 15(1)
36. La Rue, G.R. 1957. The classification of digenetic Trematoda: a review and a new system. *Experimental Parasitology* 6, 306–319.
37. Lafferty, K.D., Thomas, F., Poulin, R. 2000. Evolution of Host Phenotype Manipulation by Parasites and its Consequences. *Evolutionary Biology of Host-Parasite Relationships: Theory Meets Reality*. R. Poulin, S. Morand and A. Skorping, eds. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
38. Lebour, M.V. 1911. A review of the British marine Cercariae. *Parasitology* 4(4): 416–456
39. Leong C.H.D. & Howell M.J. 1971. Formation and structure of the cyst wall of *Stictodorus Zari* (Trematoda: Heterophyidae). *Zeitschrift für Parasitenkunde* 35: 340–350.
40. Leuckart R. 1882. Zur Entwicklungsgeschichte des Leberegels (*Distomum hepaticum*). *Arch. Naturg. Berlin*. 48 (1): 80–119.
41. Linton, E. 1915 *Tocotrema lingua* (Creplin), the adult stage of a skin parasite of the cunner and other fishes of the Woods Hole region. *J. Parasit.* 1, 128–134.
42. Luehe, M. 1909. Parasitischer Plattwurm. 1: Trematodes. *Susswasserfauna Deutschlands* (Brauer), Heft 17, iv + 217 pp.
43. Martin, W.E. 1958. The life histories of some Hawaiian heterophyid trematodes. *J. Parasit.* 44: 305–323.
44. T.L. Miller, T.H. Cribb, R.A. Bray, D.I. Gibson, A. Jones - Keys to the Trematoda, Volume 3, 2008.
45. Miller, H. M. 1926. Comparative studies on furcocercous cercariae. *Illinois Biol. Monogr.*, 10(3), pp. 112.
46. Dronen Jr., N. O. 1975. The life cycle of *Haematoloechus coloradensis* Cort 1915 (Digenea: Plagiorchiidae), with emphasis on host susceptibility to infection. *Journal of Parasitology*, 61(4), 657–660.
47. Odening, K. 1961. Historische und moderne Gesichtspunkte beim Aufbau eines natürlichen Systems der digenetischen Trematoden. *Biologische Beiträge* 1, 73–90.

48. Odening, K. 1974. Verwandtschaft, System und zyko-ontogenetische Besonderheiten der Trematoden. *Zoologischer Jahrbucher. Systematik*. 101. 345-96. (Translation : Agence Tunisienne de Public-Relations, Tunis, 1977).
49. Olson, P.D., Cribb, T.H., Tkach, V.V., Bray, R.A., & Littlewood, D.T.J. 2003. Phylogeny and classification of the digenea (platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology*, 33(7), 733-755.
50. Pampoulie, C., Lambert, A., Rosecchi, E., Crivelli, A. J., Bouchereau, J.& Morand, S. 2000. Host death: A necessary condition for the transmission of *Aphalloides coelomicola* Dollfus, Chabaud, and Golvan, 1957 (Digenea: Cryptogonimidae). *Journal of Parasitology*. 86(2), 416-417.
51. Pan J.Z., Halton D.W., Shaw C., Maule A.G., Johnston C.F. 1994. Serotonin and neuropeptide immunoreactivities in the intramolluscan stages of three marine trematode parasites. *Parasitol Res* 80:388–395
52. Pearson, J.C. 1964 A revision of the subfamily Haplorchinae Looss, 1899 (Trematoda: Heterophyidae). I. The *Haplorchis* group. *Parasitology* 54, 601-676.
53. Pearson, J.C. 1973. A revision of the subfamily Haplorchinae Looss, 1899 (Trematoda: Heterophyidae). II. Genus *Galactosomum*. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 266, 341-447.
54. Pearson, J.C., & Courtney, C.H. 1977. *Pholeter anterouterus* Fischthal & Nasir, 1974 (Digenea:Opisthorchiidae) redescribed, together with remarks on the genera *Pholeter* Odhner, 1914 and *Phocitrema* Goto and Ozaki, 1930 and their relationship to the centrocestine heterophyids. *Parasitology*, 74(3), 255-271.
55. Perkins, K.W. 1956. Studies on the morphology of *Acetodextra amiuri* (Stafford) (Trematoda: Heterophyidae). *American Midland Naturalist* 55:131- 161.
56. Powell, E.C. 1972. Optical and electron microscope studies on the excretory bladder of the supposed epitheliocystid cercaria of *Ochetosoma aniarum*. *Z Parasitenk*; 40:19-30.
57. Powell, E.C. 1973. Studies on the excretory “bladder” and caudal ducts of the supposed anepithelio-cystid cercaria of *Schistosoma mansoni*. *Z Parasitenk*; 43:43-52.
58. Powell, E.C. 1975. The ultrastructure of the excretory bladder in the supposed anepitheliocystid cercaria of *Posthodiplostomum minimum* (MacCallum, 1921). *Iowa State J Res*; 49:259-62.
59. Prévot, G. 1971. Cycle évolutif d'*Aporchis massilliensis* Timon-David, 1955 (Digenea Echinostomatidae), parasite du goéland *Larus argentatus michellis* Naumann. *Bull Soc Zool France*; 96:197-208.
60. Price, E. W. 1940. A review of the trematode superfamily Opisthorchioidea. *Proc. Helm. Soc. Washington*. 7 :1-13.

61. Rees, F.G. 1977. The development of the tail and the excretory system in the cercaria of *Cryptocotyle lingua* (Creplin) (Digenea: Heterophyidae) from *Littorina littorea* (L.). Proc R Soc London; Ser B. 195, 1121:425-52.
62. Rees, F.G. 1979. The morphology and ultrastructure of the female reproductive ducts in the meta-cercaria and adult of *Cryptocotyle lingua*, Digenea, Heterophyidae. Z Parasitenk; 60:157-76.
63. Rees, F. G. 1978. The ultrastructure, development and mode of operation of the ventrogenital complex of *Cryptocotyle lingua* (Creplin) (Digenea: Heterophyidae). Proceedings of the Royal Society of London - Biological Sciences, 200(1140), 245-267.
64. Rees, F. G. 1979. The morphology and ultrastructure of the female reproductive ducts in the metacercaria and adult of *cryptocotyle lingua* (creplin) (digenea:Heterophyida). Zeitschrift Für Parasitenkunde Parasitology Research, 60(2), 157-176.
65. Rekharani Z. & Madhavi R. 1985. Digenetic trematodes from mullets of Visakhapatnam (India). *Journal of Natural History*. 19, 929–951.
66. Schell, S. C. 1961. Development of mother and daughter sporocysts of *haplometrana intestinalis* lucker, a plagiorchoid trematode of frogs. The Journal of Parasitology, 47, 493-500.
67. Sewell, R.B.S. 1922. Cercariae indicae. Ind. J. Med. Res. 10 (Suppl.): 1-371.
68. Shameem, U., & Madhavi, R. 1988. The morphology, life-history and systematic position of *Haplorchoides mehrai* Pande & Shukla, 1976 (Trematoda: Heterophyidae). Systematic Parasitology, 11(1), 73-83.
69. Simões SBE, Barbosa HS, Santos CP. 2005. Redescription and surface ultrastructure of *Pygidiopsis macrostomum* (Digenea: Heterophyidae). *J Parasitol* 91: 931-936.
70. Steenstrup J.J.S. 1842. Ueber den Generationswechsel oder die Fortpflanzung und Entwicklung durch abwechselnde Generationen, eine eigenthumliche Form der Brutpflege in den niederen Thierklassen. Copenhagen. 50—110.
71. Thaenksam, U., Blair, D., Nawa, Y., & Waikagul, J. 2012. Families Opisthorchiidae and Heterophyidae: Are they distinct? Parasitology International, 61(1), 90-93.
72. Tolstenkov, O.O., Prokofiev, V.V., Terenina, N.B., & Gustafsson, M.K.S. 2011. The neuromuscular system in cercaria with different patterns of locomotion. Parasitology Research, 108(5), 1219-1227.
73. Srisawangwonk, T., Kanla, P., Tesana, S., & Arunyanart, C. 1989. Scanning electron microscopy of the tegumental surface of adult *Haplorchis pumilio* (Looss). Journal of Helminthology, 63(2), 141-147.
74. Vogel, H. 1934. Der Entwicklungszyklus von *Opisthorchis felineus* (Riv.) nebst Bemerkungen über die Systematik und Epidemiologie. Zoologica 86:1-103.

75. Whitfield P.J., Evans N.A. 1983. Parthenogenesis and asexual multiplication among parasitic platyhelminths. *Parasitology*. 86: 121—160.
76. Witenberg, G. 1929 Studies on the trematode family Heterophyidae. *Ann. trop. Med. Parasit.* 23, 131-239.